ΕΤΟΣ 7 ANNÉE 1953 1 ΤΕΥΧΟΣ FASCICULE

ΧΡΟΝΙΚΑ
ΤΟΥ
ΜΠΕΝΑΚΕΙΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ

ANNALES
DE L'
INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI

ΚΗΦΙΣΙΑ-ΑΘΗΝΑΙ

MYCOLO
20 AUG 19

SOMMAIRE

Page

Sarejanni J. A., S. D. Démétriadès, D. G. Zachos et A. I. Papaïoannou. — Rapport sommaire sur les principales maladies des plantes observées en Grèce au cours de l'année 1952 5

Ayoutantis A. J., C. B. Kortzas et E. D. Pélécassis. — Rapport sommaire sur les insectes et autres animaux nuisibles observés en Grèce en 1952 11

Démétriadès S. D. — Études sur la biologie du *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee.* III. L'action du magnésium et du soufre sur le développement du champignon et la formation de ses sclérotes.. 15

Kortzas C. B. et E. D. Pélécassis. — Rapport sur les travaux de lutte contre le tétranyque du cotonnier dans la région de Copaïs en 1951 21

Démétriadès S. D. — Études sur la biologie du *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee.* IV. L'utilisation de diverses sources d'azote.. 27

Pélécassis E. D. — Essais de laboratoire pour déterminer l'action de divers insecticides sur la mouche des olives, *Dacus oleae Rossi* 36

Kouyeas V. — On the sexuality of *Phytophthora parasitica Dastur* 40

Triantaphyllidis N. — Some morphological and biological notes on *Lixus algirus* Lin. (Coleoptera—Curculionidae).. 54

Démétriadès S. D. — Essais de culture, *in vitro*, des tissus des galles du *Salvia pomifera L.*.. 61

ΧΡΟΝΙΚΑ

ΤΟΥ

ΜΠΕΝΑΚΕΙΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ

ANNALES

DE L'

INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI

ΕΤΟΣ Ζ' — ANNÉE VII

ΚΗΦΙΣΙΑ-ΑΘΗΝΑΙ
1953

ΜΠΕΝΑΚΕΙΟΝ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΝ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΝ

ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Α. Ε. ΜΠΕΝΑΚΗΣ,	ΠΡΟΕΔΡΟΣ
Κ. Α. ΜΠΕΝΑΚΗΣ,	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΠΡΟΕΔΡΟΥ
Α. Α. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ,	ΤΑΜΙΑΣ
Ι. Α. ΣΑΡΕΓΙΑΝΝΗΣ,	ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ
Α. Ι. ΑΓΙΟΥΤΑΝΤΗΣ,	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΔΙΕΥΘΥΝΤΟΥ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΝ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΝ

ΔΙΕΥΘΥΝΣΙΣ

Ι. Α. ΣΑΡΕΓΙΑΝΝΗΣ,	ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ
Α. Ι. ΑΓΙΟΥΤΑΝΤΗΣ,	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΔΙΕΥΘΥΝΤΟΥ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

Ι. Α. ΣΑΡΕΓΙΑΝΝΗΣ,	ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ
Σ. Δ. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΗΣ,	ΕΠΙΜΕΛΗΤΗΣ
Δ. Γ. ΖΑΧΟΣ,	ΕΠΙΜΕΛΗΤΗΣ
Χ. Ε. ΖΑΜΠΕΤΤΑΚΙΣ,	ΒΟΗΘΟΣ
Α. Ι. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ,	ΒΟΗΘΟΣ
Π. Θ. ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ,	ΔΟΚΙΜΟΣ ΒΟΗΘΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ

Α. Ι. ΑΓΙΟΥΤΑΝΤΗΣ,	ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ
Κ. Β. ΚΟΡΤΖΑΣ,	ΕΠΙΜΕΛΗΤΗΣ
Ε. Δ. ΠΕΛΕΚΑΣΗΣ,	ΒΟΗΘΟΣ
Α. Χ. ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ,	ΔΟΚΙΜΟΣ ΒΟΗΘΟΣ
Π. Α. ΜΟΥΡΙΚΗΣ,	ΔΟΚΙΜΟΣ ΒΟΗΘΟΣ
Λ. Η. ΤΣΑΚΑΣ,	ΔΟΚΙΜΟΣ ΒΟΗΘΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

Α. Ι. ΑΓΙΟΥΤΑΝΤΗΣ,	ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ
Δις Δ. Ν. ΡΟΥΣΣΟΠΟΥΛΟΥ,	ΒΟΗΘΟΣ
Κα Α. Σ. ΤΣΟΥΚΑΛΑ,	ΔΟΚΙΜΟΣ ΒΟΗΘΟΣ
Δις Ε. ΚΟΥΛΟΥΤΠΑΝΗ,	ΔΟΚΙΜΟΣ ΒΟΗΘΟΣ

INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI

COMITÉ ADMINISTRATIF

A. E. BENAKI,	PRÉSIDENT
C. A. BENAKI,	PRÉSIDENT SUPPLÉANT
A. A. PAPADOPOULOS,	TRÉSORIER
PROF. J. A. SAREJANNI,	DIRECTEUR DE L'INSTITUT
A. J. AYOUTANTIS,	DIRECTEUR ADJOINT

PERSONNEL SCIENTIFIQUE

DIRECTION

PROF. J. A. SAREJANNI,	DIRECTEUR
A. J. AYOUTANTIS,	DIRECTEUR ADJOINT

LABORATOIRE DE PATHOLOGIE VÉGÉTALE

PROF. J. A. SAREJANNI,	DIRECTEUR DE LABORATOIRE
DR S. D. DÉMÉTRIADÈS,	CHEF DE TRAVAUX
D. G. ZACHOS,	CHEF DE TRAVAUX
CH. E. ZAMBETTAKIS,	ASSISTANT
A. I. PAPAÏOANNOU,	ASSISTANT
P. TH. CONSTANTINOU,	PRÉPARATEUR

LABORATOIRE D'ENTOMOLOGIE

A. J. AYOUTANTIS,	DIRECTEUR DE LABORATOIRE
C. B. KORTZAS,	CHEF DE TRAVAUX
E. D. PÉLÉCASSIS,	ASSISTANT
A. CH. TRIANTAPHYLLOU,	PRÉPARATEUR
P. A. MOURIKIS,	PRÉPARATEUR
L. I. TSAKAS	PRÉPARATEUR

LABORATOIRE DE PHYTOPHARMACIE

A. J. AYOUTANTIS,	DIRECTEUR DE LABORATOIRE
MLLE D. N. ROUSSOPOULOS,	ASSISTANTE
MME A. S. TSOUCALAS,	PRÉPARATRICE
MLLE E. KOULOUTPANIS,	PRÉPARATRICE

ΠΙΝΑΞ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΤΟΥΣ Ζ', 1953

Σελὶς

ΑΓΙΟΥΤΑΝΤΗ Α. Ι., Κ. Β. ΚΟΡΤΖΑ καὶ Ε. Δ. ΠΕΛΕΚΑΣΗ.— Συνοπτικὴ ἔκθεσις ἐπὶ τῶν ἐντόμων καὶ ἄλλων ἐπιβλαβῶν ζῴων, τῶν παρατηρηθέντων ἐν Ἑλλάδι κατὰ τὸ ἔτος 1952 11

ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΟΥ Σ. Δ.—Μελέται ἐπὶ τῆς βιολογίας τοῦ μύκητος *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee.* III. Ἡ ἐπίδρασις τοῦ Μαγνησίου καὶ τοῦ Θείου ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως τοῦ μυκηλίου καὶ τοῦ σχηματισμοῦ τῶν σκληρωτίων του 15

ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΟΥ Σ. Δ.—Μελέται ἐπὶ τῆς βιολογίας τοῦ μύκητος *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee.* IV. Ἡ χρησιμοποίησις διαφόρων ἀζωτούχων οὐσιῶν 27

ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΟΥ Σ. Δ.—Προσπάθεια καλλιεργείας, *in vitro*, τῶν ἱστῶν τῶν κηκίδων τοῦ φυτοῦ *Salvia pomifera L.* 61

ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΟΥ Σ. Δ. καὶ Α. Ι. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ.— Μελέται ἐπὶ τῆς βιολογίας τοῦ μύκητος *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee.* V. Ὁ σχηματισμὸς τῶν ἀποθηκίων ὑπὸ τὰς συνθήκας τῆς Ἀττικῆς.. 95

ΖΑΜΠΕΤΤΑΚΙ Χ. — Διχοτομικαὶ κλεῖδες τῶν γενῶν καὶ εἰδῶν τῶν Phaeodidymae τῆς οἰκογενείας τῶν Sphaeropsidaceae.. 112

ΚΟΡΤΖΑ Κ. Β. καὶ Ε. Δ. ΠΕΛΕΚΑΣΗ.—Ἔκθεσις ἐπὶ τῶν ἐργασιῶν καταπολεμήσεως τοῦ Τετρανύχου τοῦ βάμβακος ἐν τῇ περιοχῇ τῆς Κωπαΐδος κατὰ τὸ ἔτος 1951 21

ΚΟΡΩΝΑΙΟΥ Ι. Α., Γ. ΠΑΠΑΔΟΠΕΤΡΟΥ καὶ Β. ΚΥΡΙΑΦΙΝΗ.— Προκαταρκτικὸν πείραμα καταπολεμήσεως τοῦ Δάκου διὰ παραθείου εἰς τὸν Ἐλαιῶνα τοῦ Γεωργικοῦ Σταθμοῦ Χαλκιδικῆς κατὰ τὸ ἔτος 1953.. 69

ΚΟΥΓΕΑ Β. — Ἐπὶ τοῦ σεξουαλισμοῦ τοῦ μύκητος *Phytophthora parasitica Dastur* 40

ΠΕΛΕΚΑΣΗ Ε. Δ. Ἐργαστηριακὰ πειράματα διὰ τὴν μελέτην τῆς δράσεως διαφόρων ἐντομοκτόνων ἐπὶ τοῦ Δάκου 36

ΣΑΡΕΓΙΑΝΝΗ Ι. Α., Σ. Δ. ΔΗΜΗΤΡΙΑΔΟΥ, Δ. Γ. ΖΑΧΟΥ καὶ Α. Ι. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ, Συνοπτικὴ ἔκθεσις ἐπὶ τῶν κυριωτέρων ἀσθενειῶν τῶν φυτῶν, τῶν παρατηρηθεισῶν ἐν Ἑλλάδι κατὰ τὸ ἔτος 1952 5

ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΔΗ Ν. Μορφολογικαί τινες καὶ βιολογικαὶ παρατηρήσεις ἐπὶ τοῦ ἐντόμου *Lixus algirus* Lin. (Κολεόπτερα-Curculionidae) 54

TABLE DES MATIÈRES

DE L'ANNÉE VII, 1953

Page

AYOUTANTIS A. J., C. B. KORTZAS et E. D. PÉLÉCASSIS — Rapport sommaire sur les insectes et autres animaux nuisibles observés en Grèce en 1952 11

CORONÉOS J. A., G. PAPADOPÉTROS et B. KYRIAFINIS.—Experience préliminaire de lutte contre le *Dacus oleae* par le parathion en 1953. 69

DÉMÉTRIADÈS S. D.—Études sur la biologie du *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee.* III. L'action du magnésium et du soufre sur le développement du champignon et la formation de ses sclérotes 15

DÉMÉTRIADÈS S. D.—Études sur la biologie du *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee.* IV. L'utilisation de diverses sources d'azote 27

DÉMÉTRIADÈS S. D.—Essais de culture, *in vitro*, des tissus des galles du *Salvia pomifera L.* 61

DÉMÉTRIADÈS S. D. et A. J PAPAÏOANNOU.—Études sur la biologie du *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee.* V. La formation des apothécies sous les conditions de l'Attique (Grèce) 95

KORTZAS C. B. et E. D. PÉLÉCASSIS.— Rapport sur les travaux de lutte contre le tétranique du cotonnier dans la région de Copaïs en 1951 21

KOUYEAS V.— On the Sexuality of *Phytophthora parasitica Dastur* .. 40

PÉLÉCASSIS E. D. — Essais de laboratoire pour déterminer l'action de divers insecticides sur la mouche des olives, *Dacus oleae Rossi* 36

SAREJANNI J. A., S. D. DÉMÉTRIADÈS, D. G. ZACHOS et A. J. PAPAÏOANNOU. Rapport sommaire sur les principales maladies des plantes observées en Grèce au cours de l'année 1952 5

TRIANTAPHYLLIDIS N.— Some morphological and biological notes on *Lixus algirus* Lin. (Coleoptera-Curculionidae) 54

ZAMBETTAKIS CH. Clés dichotomiques des genres et des espèces des Phaeodidymae de la famille des Sphaeropsidaceae 112

ΧΡΟΝΙΚΑ
ΤΟΥ
ΜΠΕΝΑΚΕΙΟΥ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ
ANNALES
DE L'
INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI

ΕΤΟΣ ANNÉE 7 — 1953 — ΤΕΥΧΟΣ FASCICULE 1

RAPPORT SOMMAIRE SUR LES PRINCIPALES MALADIES DES PLANTES OBSERVÉES EN GRÈCE AU COURS DE L'ANNÉE 1952

par

J. A. SAREJANNI, S. D. DÉMÉTRIADÈS, D. G. ZACHOS et A. I. PAPAÏOANNOU

L' année 1952 a été une année sans mildiou aux vignes. En automne 1951 les oospores étaient nombreuses sur les feuilles un peu partout dans le pays, mais ces spores ne germèrent pas au printemps, même quand on les exposait expérimentalement à des conditions optima au laboratoire. Probablement la longue période de sécheresse de la fin d'hiver dévitalisa ces organes ou tout simplement prolongea au delà du mois de juin leur maturation. Le *Botrytis cinerea Pers.* fit quelques dégâts aux vignobles de l'île de Rhodes. Les pourridiés endommagèrent les vignes à différents districts: la présence de l'*Armillaria mellea (Vahl. ex Fr.) Quél.* fut signalée à Karditsa en Thessalie, et celle du *Rosellinia necatrix (Hart.) Berl.* à Scala, dans le Sud du Péloponnèse. De graves dégâts dus au mal de l' «Esca» furent constatés en Arcadie (Potamia et Mégalopolis), en Attique, à l'île de Leucade et aux environs de Patras. Des broussins, provoqués probablement par le *Bacterium tumefaciens Smith et Townsend,* nous furent envoyés de la région d'Eleusis. De nouveaux foyers de dégénérescence infectieuse furent trouvés aux environs de Patras, dans quelques localités de l' Épire et du département d'Étolie et Acarnanie. La maladie s'observe aussi bien sur les vignes greffées sur sujets américains

que sur les vignes franches sur pied dans les départements où le phylloxéra n'a pas encore fait son apparition. La grande sécheresse de l'année multiplia les cas d'échaudage des grappes en Attique. Les grandes chaleurs exceptionnelles de la dernière quinzaine d'août endommagèrent sérieusement la qualité du raisin de table des variétés tardives: «Rozaki» et «Sideritis» dans un très grand nombre de vignobles du Péloponnèse et de l'île de Crète. Le mal se présenta juste avant la maturité; les grains des grappes atteintes perdaient leur belle coloration—dorée de la première variété citée et rosée de la seconde—et prenaient une teinte terne et légèrement brunâtre, qui était plus forte sur une des faces du fruit. La détérioration semblait superficielle, mais il n'en est pas moins vrai, que la pellicule des grains restait fragile et se détachait assez facilement sur sa face décolorée; les grappes donc touchées n'étaient pas facilement transportables. Aucun champignon ni autre microorganisme n'était associé à ces altérations de la pellicule. Du district de Kyparissia on nous a envoyé des échantillons de sarments souffrant de rougeot avec chute prématurée des feuilles, qu'on a attribué aux incisions annulaires trop fortes. Aux environs de Patras, et plus particulièrement dans la région de Loussika, les pulvérisations arsenicales contre le mal de l'«Esca» causèrent des dégâts importants dans plusieurs localités quoiqu'elles furent exécutées à la saison propice et avec les doses habituellement employées d'arsénite de sodium. Des dégâts analogues furent signalés en Californie ces dernières années, après un hiver particulièrement doux, comme c'était aussi le cas du nôtre en 1952. De plusieurs communes de la Macédoine, du Péloponnèse et des îles de Samos et d'Eubée nous furent envoyés des échantillons de feuilles déformées par l' action d' herbicides hormoniques.

Le *Sclerotinia laxa Aderh. et Ruhl.* causa des dégâts importants aux cerisiers d'Astros et aux abricotiers des environs d' Athènes; en Attique les amandiers souffrirent aussi cette année des attaques de ce champignon. Le *Coryneum Beijerinckii Oud.* endommagea les abricotiers du district de Mégalopolis; le même parasite fut aussi signalé sur amandiers souffrant des attaques du *Sclerotinia* aux environs d'Athènes. Des attaques sérieuses de *Sphaerotheca pannosa (Wallr.) Lev.* nous furent signalées sur pêcher à l'île de Samos. Le pourridié causé par le *Rosellinia necatrix (Hart.) Berl.* a été constaté sur cerisier à Elasson (Thessalie) et aux environs d'Athènes. Le *Pseudomonas syringae Van Hall* causa des dégâts importants aux cerisiers aux environs d'Athènes.

Du département de Corinthe on nous a envoyé des rameaux de pommier souffrant des attaques du *Podosphaera leucotricha (Ell. et Ev.) Salm.* Les pourridiés causèrent par places des dommages aux pommiers: l'*Armillaria mellea (Vahl. ex Fr.) Quél.* fut trouvé à Mégalopolis et le *Rosellinia necatrix (Hart.) Berl.* à Verria, à Elasson et dans l'île de Samos. Des pommes portant des attaques du *Trichothecium roseum (Bull.) Link.* nous furent envoyées de Vytina. Le *Pseudomonas syringae Van Hall* causa des dégâts aux pommiers à Kastoria et à de jeunes fruits de poirier aux environs de Patras.

D' Arta en Épire et de plusieurs localités du Nord et du Sud du Péloponnèse on nous a envoyé des oranges atteintes de pourritures causées par plus d'un *Phytophthora sp.* Le *Deuterophoma tracheiphila Petri* continue à causer des ravages importants aux citronniers du Nord du Péloponnèse; sa présence a été aussi constatée dans la région d' Astros. Au cours d' une visite dans la région de Galata, avec les Professeurs Goidanich et Ruggieri, nous avons constaté que les citronniers de double greffe—sur mandarinier porté par bigaradier—étaient tout aussi bien attaqués par le champignon que les citronniers greffés directement sur bigaradiers. Le «little leaf» a été trouvé dans plusieurs localités de l'Est du Péloponnèse; on l'a guéri facilement avec les pulvérisations au sulfate de zinc.

Des oliviers souffrant d'une hadromycose causée par le *Verticillium albo-atrum Reinke et Berth.*, qui a été isolé en culture, ont été trouvés à Stylis. Des échantillons d'olives attaquées par le *Macrophoma dalmatica (Thüm.) Berl. et Vogl.* nous ont été envoyés de Lixouri de l'île de Céphalonie et de Kranidi du Péloponnèse. Des branches d' oliviers attaqués par le *Pseudomonas Savastanoi (Smith) Stevens* nous ont été envoyés de Trikolona en Péloponnèse, d' Agrinion et de l'île de Samos. Une chute de jeunes fruits attribuée à la sécheresse a été étudiée aux environs de Chalkis.

La présence de la mosaique a été constatée sur figuier à l'île de Léros, aux environs d'Athènes, à Galata sur la côte en face de l'île de Poros.

Dans plusieurs jardins des environs d'Athènes on a trouvé des pistachiers souffrant de l'attaque du collet causée par des *Phytophthora sp.*, qu'on a isolés en culture.

L'*Ophiobolus graminis Sacc.* a fait quelques dégâts au blé à l'île de Santorin et à Drossia aux environs d'Athènes. Le *Septoria tritici Rob. et Desm.* a été trouvé sur échantillons de blé envoyés de Dourouti (Épire).

Un *Helminthosporium sp.* et le *Rhynchosporium secalis (Oud.) Dav.* ont fait quelques dégâts à Néa Moudania dans la Chalcidique. A Plati, en Macédoine, le *Sphacelotheca sorghi (Lk.) Clinton* a fait des dégâts importants au sorgho.

Le *Piricularia oryzae Briosi et Cav.* provoqua des dégâts importants au riz à Scala (Laconie). L'asphyxie des racines détruisit entièrement les rizières établies pour la première fois dans la plaine de Marathon ; elle fit des dégâts aussi aux rizières de Scala.

Le *Verticillium albo-atrum Reinke et Berth.* a fait par places des dommages aux plantations de coton d'Amphissa et de Livadia. Le *Rhizoctonia solani Kühn* causa quelques pertes aux jeunes plantes de coton à Nea Anchialos. L'*Aspergillus niger Van Tiegh.* favorisé par les pluies abondantes, endommagea en automne de nombreuses capsules de coton à Amphiklia. Des feuilles de cotonnier portant des taches causées par un *Phyllosticta sp.* furent envoyées de Santorin. De Scala en Laconie, de Verria en Macédoine, de différentes localités du département d'Étolie et Acarnanie on nous a envoyé des feuilles de coton déformées par les hormones herbicides.

M. Stamatini de l'Institut de Tabac nous a envoyé de la région de Katérini des plantes de tabac qui étaient restées naines et qui portaient sur leurs racines des excroissances; nous n'avons pas trouvé sur ces racines trace de bactérie, de nématode ou de champignon. La maladie, qui semble être contagieuse et se propager par le sol, rappelle la maladie «Club root» des auteurs américains, qui l'attribuent à un virus. Des feuilles de tabac portant les dessins caractéristiques du «ring spot» nous ont été envoyées de l'île de Lesbos. Le *Pythium aphanidermatum (Edson.) Fitz.* fit des dégâts importants dans la région d'Agrinion ; ce champignon cause au tabac une maladie qui ne se distingue pas en plein champ de celle que cause le *Phytophthora parasitica Dastur var. nicotianae.* L'isolement en tubes de culture permet seul la détermination du véritable pathogène dans chaque cas.

Le *Rhizoctonia crocorum Fr.* fit des dégâts aux luzernières de Verria.

Le *Phytophthora infestans (Mont.) de Bary* causa des pertes importantes à la culture de printemps des pommes de terre à Mallia en Crète, et aux cultures de l'automne de la même plante aux environs d'Athènes, à l'île de Lesbos et à différentes localités de l'Épire. Le *Rhizoctonia solani Kühn* endommagea les plantations de pomme de terre, à Atalanti et à Amphissa, tandis que le *Rhizoctonia crocorum Fr.* causa des dommages tout aussi importants aux cultures du Mont

Vermion en Macédoine. Le *Pythium aphanidermatum (Edson.) Fitz.* causa par places des pertes très graves en septembre aux cultures de pomme de terre de la seconde plantation, du mois d'août, dans la région de Thèbes. Le faciès de cette maladie est absolument semblable à l'apoplexie que cause le *Phytophthora parasitica Dastur* à la même plante; l'isolement en culture du champignon permet la distinction des deux pathogènes. Le *Spondylocladium atrovirens Hartz.* et des *Fusarium sp.* firent des dégâts aux tubercules en magasin à Kalamata. Des échantillons de tubercules d'Arran Banner portant dans leur chair des taches non concentriques connues sous le nom de «taches de rouille» ou «taches de fer», nous furent envoyés de différentes localités, notamment de l'île de Chio. Aux environs de Thèbes apparut cette année, et seulement à la seconde culture, celle de l'automne, une maladie importante, qui paraît être nouvelle et contagieuse. Elle semble être une bactériose qui, par de nombreux caractères, rappelle le «ring rot» des auteurs anglosaxons; nous n'avons pas encore pu déterminer la bactérie pathogène.

Les tomates souffrirent des attaques du *Rhizoctonia solani Kühn* à Atalanti, du *Phytophthora parasitica Dastur* aux environs d'Argos, du *Colletotrichum phomoides (Sacc.) Chester* à Mégara, et d'une virose qui ressemblait à celle que cause le virus Cucumis I à Lycovryssi, aux environs d'Athènes.

Le *Verticillium albo-altrum Reinke et Berth.* causa des dégâts aux aubergines à Léonidion, et le *Sclerotium rolfsii Sacc.* fit des pertes importantes aux cultures des mêmes plantes dans l'île de Lesbos et aux environs de Patras.

Le *Puccinia allii (D.C.) Rudolph* fit quelques dommages aux cultures d'ail de l'île de Milo.

Le *Septoria apii-graveolentis Dorog.* causa des dégâts aux cultures de céleri à Artaki de l'île d' Eubée.

L' *Uromyces fabae (Pers.) de Bary* aux environs d'Athènes et le *Rhizoctonia solani Kühn* à l'île de Chio causèrent quelques dommages aux fèves.

A Boghiati (Attique) et à l'île de Tinos, le *Macrophomina phaseoli (Maubl.) Ashby* causa des pertes très graves aux cultures des haricots.

L' année 1952 fut, paraît-il, une année particulièrement favorable à la distribution des viroses des *Cucurbitaceae.* De plusieurs localités de la Grèce continentale, du Péloponnèse et des îles, on nous a envoyé une foule d'échantillons de concombres, de melons et des plantes à courgettes, qui étaient frappés de stérilité et dont les feuilles présentaient

les symptômes de la Mosaïque. En Attique, le *Cladosporium cucumerinum Ell. et Arth.* fit quelques dégâts aux cultures des concombres. De Kyparissia on nous a envoyé des plantes de pastèque dont les racines étaient attaquées par le *Macrophomina phaseoli (Maubl.) Ashby.*

Dans les jardins des environs d'Athènes des arbustes de *Rhamnus sp.* eurent leurs racines attaquées par le *Rosellinia necatrix (Hart.) Berl.*

De jeunes pins dans les couches à semis dans la province de Sitia souffrirent des attaques du *Macrophomina phaseoli (Maubl.) Ashby.* De diverses localités de la Macédoine Orientale on nous a envoyé des aiguilles de pin portant des écidies d'un *Coleosporium sp.*

De la province de Sitia on nous a envoyé de jeunes plantules de cyprès souffrant des attaques du *Macrophomina phaseoli (Maubl.) Ashby.*

RAPPORT SOMMAIRE SUR LES INSECTES ET AUTRES ANIMAUX NUISIBLES OBSERVÉS EN GRÈCE EN 1952

par

A. J. AYOUTANTIS, C. B. KORTZAS et E. D. PÉLÉCASSIS

Dans ce rapport ne figurent pas les espèces très communes dans tout le pays, qui ont été déjà mentionnées à maintes reprises dans les rapports des années précédentes.

En 1952, nous avons signalé sur les céréales: le charançon *Barytychius hordei Brullé,* en Attique, sur blé; un *Anisoplia sp.* sur la même culture en Arcadie; la petite mouche *Oscinis frit L.* sur orge en Macédoine Orientale et dans la Thrace.

Des rizières de Laconie nous avons reçu des échantillons du puceron *Sipha maydis Passer.,* du coléoptère dytiscide *Cybister lateralimarginalis de Geer,* dont la femelle causerait, paraît-il, quelques dégâts en enroulant les bases des feuilles pour y déposer ses œufs, de la mouche *Ephydra macellaria Egg.*

La chenille très polyphage du *Spodoptera exigua Hübn.* fut constatée sur maïs et cotonnier en Laconie, sur cotonnier en Béotie, sur pommes de terre dans l'île de Paros.

Sur le cotonnier nous avons signalé, d'autre part, l'hémiptère aleurodide *Bemisia tabaci Gennad.* abondant dans le département d'Arta et en Macédoine. Des élevages du ver rose des capsules, *Platyedra gossypiella Saund.,* provenant de Livadia, nous avons obtenu le parasite bien connu, *Pimpla roborator Fabr.*

Des gousses de soja attaquées par la pyrale, *Etiella zinckenella Treit.,* nous ont été envoyées du département de Larissa.

Sur luzerne, nous avons observé les coléoptères *Phytonomus variabilis Herbst* dans la plaine de Copaïs et *Phytodecta fornicatus Brüggm.* à Drama, en Macédoine Orientale, ainsi que la noctuelle *Prodenia litura Fabr.* dans la province de Pylos, à l'extrémité sud-ouest du Péloponnèse. Cet insecte, qui en Égypte occasionne toujours des dégâts très graves à la production cotonnière, est signalé, du moins à notre connaissance, pour la première fois en Grèce—et plus

généralement sur l'Europe—Continentale. Sa présence est mentionnée dans l'île de Crète depuis assez longtemps.

Sur diverses espèces de trèfle nous avons déterminé: le *Phytodecta fornicatus Brüggm. ab. innotatus Weise,* à Drama, et la noctuelle *Plusia gamma L.* dans l'île de Paros; les chenilles de *Vanessa sp.* furent aussi trouvées sur trèfle dans cette dernière île.

Dans la région de Copaïs on a constaté la présence du *Teratolytta dives Brullé ab. phalerata Frivaldsky* sur fèves; ce coléoptère avait été signalé, il y a plusieurs années, en Macédoine Occidentale sur les arbres fruitiers.

Le pyralide *Hellula undalis Fabr.* fut observé, très nuisible, sur chou-fleur aux environs de Chalcis, sur choux et crucifères ornementales (Matthiola) dans la plaine de Copaïs. Des élevages de cet insecte, provenant de Chalcis, nous avons obtenu l'hyménoptère braconide *Amicroplus collaris Spin.,* dont nous devons la détermination à l'obligeance du Dr. Ch. Ferrière, de Genève.

Sur pommes de terre nous avons signalé des dommages par le *Phthorimaea operculella Zell.* en Attique, dans la plaine de Thèbes, aux îles de Naxos et Paros. Comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, dans cette dernière île les pommes de terre furent aussi attaquées par le *Spodoptera exigua Hübn.*

La chenille polyphage de l'*Heliothis armigera Hübn.* a été observée sur tomate dans l'île de Lesbos.

Dans la province de la Locride les oignons ont été sérieusement attaqués par la mouche *Hylemyia ceparum Meig.*

Sur concombre nous avons déterminé, dans l'île de Poros, l'espèce polyphage *Hylemyia cilicrura Rond.*

Un collembole du genre *Sminthurus* a été constaté assez nuisible aux artichauts en Attique.

Sur vigne, l'eudémis et les diverses espèces d'*Otiorrhynchus* ont provoqué, comme d'habitude, d'assez graves dommages dans plusieurs régions de la Grèce Méridionale. Une invasion du sphinx migrateur, *Deilephila lineata Fabr.,* fut signalée dans l'île de Théra.

Parmi les ennemis extrêmement nombreux des cultures fruitières nous nous bornons à nommer les suivants, en laissant de côté les espèces banales:

Sur cerisier on a observé, an Attique, le *Scolytus mediterraneus Ratz.* et une espèce d' *Hermacophaga,* chrysomélide intéressant, qui mériterait d'être étudié de plus près.

La chenille du *Cacoecia rosana (L.)* fut déterminée sur abricotier, rosier et pistachier en Attique, sur abricotier dans les Cyclades.

Sur amandier, nous avons signalé, en Attique, l'hyménoptère *Eurytoma amygdali Enderl.*

En ce qui concerne le poirier, nous mentionnons le *Parlatoria oleae Colv.* en Attique, une espèce de *Psylla* dans la même province; la cécidomyie *Apiomyia Bergenstammi Wachtl.* et son parasite chalcidien *Oxyglypta rugosa Ruschka* à Livadia ; une espèce de *Luperus,* coléoptère chrysomélide, en Arcadie.

La chenille du *Blastodacna putripennella Zell.* fut constatée sur poirier en Attique, sur poirier et pommier en Arcadie.

Le coléoptère téléphoride *Cantharis obscura L.* a causé quelques dégâts sur poirier et pommier en Macédoine Occidentale. Dans la même région nous avons signalé sur pommier le *Scolytus rugulosus Ratz.* Sur cette essence on a observé en Arcadie un *Lecanium sp.* et le *Stephanitis piri Fabr.*

Sur les agrumes, nous mentionnons, à part les autres diaspinés bien connus, un *Mytilaspis sp.* sur oranger dans l'île de Leucas. Sur oranges tombées par terre, à la suite d'un trouble probablement physiologique, nous avons constaté dans cette île le développement du coléoptère nitidulide *Carpophilus hemipterus L.* Dans la même région est nuisible le *Pseudococcus citri (Risso)*, fréquent aussi le long de la côte opposée de la Grèce Occidentale. Les orangers du département d'Arta ont souffert sous l'attaque du *Ceratitis capitata (Wied).*

Sur noyer, le cérambycide *Oberea linearis (L.)* a été signalé de nouveau en Arcadie et en Attique.

Dans l'île de Lesbos nous avons observé sur pistachier le *Stathmopoda Guerini Staint.*, commun aussi en Attique et dans d'autres régions de la Grèce Méridionale.

Sur le lentisque à mastic cultivé dans l'île de Chio le petit homoptère *Agonoscena Targionii Licht.* était si abondant, qu'il a causé des dégâts assez considérables en envahissant les rameaux des arbustes.

En ce qui concerne les essences forestières, nous avons signalé, sur diverses espèces de chêne, le *Tortrix viridana L.* en Attique, l'*Euproctis chrysorrhoea L.* dans l'île d'Eubée, le *Neuroterus lenticularis Oliv.* en Étolie.

Parmi les insectes des plantes ornementales, nous signalons le *Chrysomela americana L.* sur lavande en Attique.

Quant aux acariens, nous mentionnons, à côté des nombreuses

espèces de *Tetranychus* et *Eriophyes* parasitant les plantes les plus diverses, le *Bryobia praetiosa Koch* sur pommier dans les provinces d'Attique, de Larissa, de Triphylie, ainsi qu'aux îles de Samos et d'Icarie; sans aucun doute, sa présence était en 1952 générale dans toute la Grèce et sa multiplication extraordinaire s'expliquerait par les traitements irréfléchis aux insecticides organiques de synthèse, pratiqués par les arboriculteurs, surtout contre le ver des pommes, mais qui exterminent aussi les prédateurs des acariens. Une espèce de *Tenuipalpus* fut observée sur cédratier dans le département de Réthymno, en Crète; un *Phyllocoptes sp.* sur pommes de terre en Béotie.

En ce qui concerne les nématodes, nous avons signalé des dégâts causés par le *Heterodera Marioni Cornu* sur tomate en Chalcidique et dans diverses provinces de la Grèce Méridionale.

ÉTUDES SUR LA BIOLOGIE DU *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM (LIB). MASSEE.*

III. L'ACTION DU MAGNÉSIUM ET DU SOUFRE SUR LE DÉVELOPPEMENT DU CHAMPIGNON ET LA FORMATION DE SES SCLÉROTES

par

STÉPHANE D. DÉMÉTRIADÈS

En étudiant le développement du *Sclerotinia sclerotiorum* et de l' *Alternaria solani* sur des milieux synthétiques, Newton (4) a trouvé que lorsqu'on ajoutait à un milieu de base, contenant du glucose, de l' azote, du potassium et du phosphore, les ions Mg^+, Ca^+ et SO_4^-, l'on obtenait une augmentation du poids de la matière sèche. Cet auteur n'a pas fait d'observations sur la formation des sclérotes, étant donné qu'il arrêtait ses cultures assez tôt.

Tanrikut et Vaughan (6) ont par contre observé que seuls le sucre, l'azote et le phosphore avaient une influence sur le développement du *Sclerotinia sclerotiorum*, tandis que le magnésium, le soufre, le potassium et le fer ne manifestaient aucune action.

Au cours de nos recherches sur la biologie de ce dernier champignon (1, 2), nous avons jugé qu'il serait intéressant d'examiner l'action du magnésium et du soufre sur la croissance de cette espèce et la formation de ses sclérotes, à cause des données contradictoires des auteurs précédents. Dans ce qui suit nous exposons les résultats que nous avons obtenus.

TECHNIQUE ET MATÉRIEL

Notre champignon fut cultivé sur une solution nutritive contenant par litre 5 gr. de nitrate de potassium, 2.5 gr. de phosphate monopotassique, des traces de chlorure ferrique et 50 gr. de glucose.

Cette solution, désignée comme milieu de base, fut additionnée de sulfate ou de chlorure de magnésium ou de sulfate de sodium à des concentrations variables suivant le cas.

Le milieu sur lequel nous cultivons habituellement notre champignon (solution de Richard diluée de moitié) contient 1,250 gr. de

sulfate de magnésium, ce qui correspond à 0,124 pour 100. C'est cette solution que nous avons considérée comme témoin et l'avons comparée d'une part avec des solutions ayant une concentration en sulfate de magnésium dix fois plus faible et deux fois plus forte, et, d'autre part, avec des solutions contenant du Mg et du S seuls aux mêmes concentrations. Les milieux ainsi obtenus étaient donc les suivants:

1.	Milieu de base							
2.	»	»	»	+ $MgSO_4.7H_2O$	à	0,012	pour	100
3.	»	»	»	+ $MgSO_4.7H_2O$	à	0,124	»	»
4.	»	»	»	+ $MgSO_4.7H_2O$	à	0,248	»	»
5.	»	»	»	+ $MgCl_2.6H_2O$	à	0,010	»	»
6.	»	»	»	+ $MgCl_2.6H_2O$	à	0,100	»	»
7.	»	»	»	+ $MgCl_2.6H_2O$	à	0,200	»	»
8.	»	»	»	+ Na_2SO_4	à	0,007	»	»
9.	»	»	»	+ Na_2SO_4	à	0,071	»	»
10.	»	»	»	+ Na_2SO_4	à	0,142	»	»
11.	»	»	»	+ $MgCl_2.6H_2O$	à	0,100	»	»
				+ Na_2SO_4	à	0,071	»	»

La culture du *Sclerotinia sclerotiorum* se faisait dans des fioles coniques en Pyrex de 250 cc de capacité contenant 25 cc de solution nutritive, stérilisée à 115° C pendant 20 minutes. L'inoculation eut lieu au moyen d'un sclérote de grosseur approximativement égale pour tous les cas. Au bout de 20 jours d'incubation à 25° C les cultures furent filtrées, desséchées à 105° C pendant 24 heures et pesées. La matière sèche ainsi obtenue comprenait celle du mycélium et des sclérotes. Le nombre de ces derniers était d'autre part noté dans chaque cas. Tous les résultats donnés représentent la moyenne de cinq cultures.

RÉSULTATS

Les résultats de nos essais, résumés dans le tableau et le graphique ci-dessous, montrent que le rendement en matière sèche, sur le milieu de base, dépourvu de magnésium et de soufre, est considérablement diminué par rapport au témoin. La masse mycélienne formée sur ce milieu incomplet présente en outre un aspect nettement anormal; elle est translucide et visqueuse, tandis que le mycélium du témoin donne une nappe blanche, ferme et plus ou moins floconneuse.

La formation des sclérotes est d'autre part presque totalement inhibée en l'absence de ces deux éléments.

TABLEAU

L'action du magnésium et du soufre sur le développement du mycélium du *Sclerotinia sclerotiorum* et la formation de ses sclérotes.

Substance ajoutée au milieu de base	Quantité en mgr. donnée par culture (25 cc)	Quantité des éléments par culture (25 cc) en mgr.		Poids de matière sèche en gr. (moyenne de 5 cultures)	Nombre de sclérotes formés (moyenne de 5 cultures)	Signification des résultats par rapport au témoin *
		Mg	S			
—	—	—	—	0,225	1	S
$MgSO_4.7H_2O$	3	0,3	0,4	0,499	23	ns
$MgSO_4.7H_2O$ (Témoin)	31	3	4	0,518	29	—
$MgSO_4.7H_2O$	62	6	8	0,499	33	ns
$MgCl_2.6H_2O$	2,5	0,3	—	0,271	2	S
$MgCl_2.6H_2O$	25	3	—	0.280	3	S
$MgCl_2.6H_2O$	50	6	—	0,212	2	S
$NaSO_4$	1,8	—	0,4	0,142	1	S
$NaSO_4$	18	—	4	0,291	2	S
$NaSO_4$	36	—	8	0,235	3	S
$MgCl_2.6H_2O+NaSO_4$.	31+18	3	4	0,412	24	ns

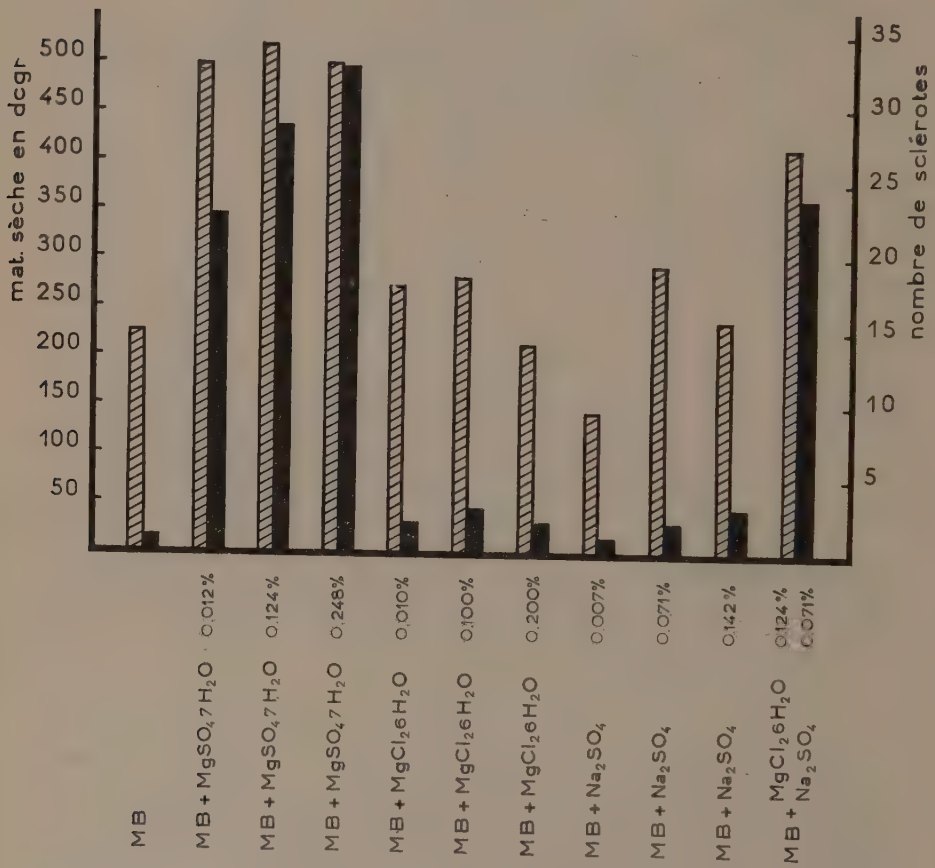
* ns = non significatif
S = hautement significatif (au seuil de 0,01).

L'addition au milieu de base de 0,012 p. 100 de sulfate de magnésium a pour effet l'augmentation du poids de la matière sèche et du nombre des sclérotes jusqu'à un niveau tel que les rendements deviennent égaux à ceux du témoin, qui a une concentration en $MgSO_4.7H_2O$ dix fois plus forte. Une dose double à celle du témoin ne change en rien les résultats et donne le même rendement que ce dernier (voir tableau).

On a par conséquent les mêmes rendements quant à la production de matière sèche et le nombre des sclérotes avec 0.3, 3 et 6 mgr. de Mg et 0.4, 4 et 8 mgr. de S par culture de 25 cc.

En remplaçant le sulfate de magnésium de nos solutions soit par le sulfate de sodium, soit par le chlorure de magnésium, de ma-

nière qu'il y ait finalement la même concentration en Mg et en S que dans les solutions pourvues de $MgSO_4.7H_2O$, on constate que ni le magnésium ni le soufre réussissent, quand ils sont seuls, à provoquer une amélioration perceptible du développement par rapport au témoin. Le rendement, en absence d'un de ces deux éléments, ne dépasse pas le niveau de celui obtenu dans le milieu de base.



L'action du Mg et du S sur le *Sclerotinia sclerotiorum*
Rendement en matière sèche (en hachures) et formation des sclérotes (en noir).

Si, par contre, on associe dans la solution nutritive le chlorure de magnésium au sulfate de sodium, on voit que la croissance du mycélium et la production des sclérotes redeviennent normales.

DISCUSSION

Les résultats de nos expériences montrent que la carence totale en magnésiun et en soufre n'inhibe pas complètement le développement du mycélium du *Sclerotinia sclerotiorum*, fait qui corrobore les résultats de Newton (4). La formation cependant des sclérotes paraît presqu' impossible dans un milieu dépourvu de ces deux éléments.

Rabinovitz-Sereni (5) rapporte que la carence de magnésium inhibe totalement la croissance des champignons *Penicillium glaucum, Botrytis cinerea* et *Alternaria tenuis*, mais qu'il suffit d'une concentration de 0,04 pour 100 en $MgSO_4.7H_2O$ pour qu'il se manifeste une augmentation du poids de la matière sèche et la production de spores. Dans notre cas, une dose quatre fois plus faible que celle citée par cet auteur, a un tel effet favorable que les différences observées entre cette concentration et le témoin ne soient plus significatives.

D'après nos résultats, il paraît que le Mg et le S ont une action très nette sur la croissance du *Sclerotinia sclerotiorum*, fait, qui est en désaccord avec les données de Tanrikut et Vaughan (6). Ces deux éléments utilisés séparément ne permettent pas un développement normal. Le rôle du magnésium comme constituant de certaines enzymes et du soufre dans la synthèse des protéines (3) expliquerait bien la sévérité des phénomènes anormaux observés en cas de carence de l'un ou de l'autre. Il est pourtant à noter que les troubles provoqués par l'absence de ces éléments ont une répercussion beaucoup plus grave à la formation des sclérotes qu'à la croissance du mycélium.

RÉSUMÉ

Le *Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee* cultivé sur un milieu synthétique contenant de l'azote, du phosphore, du potassium, du chlorure ferrique et du glucose et dépourvu de magnésium et de soufre, forme une matière sèche dont le poids atteint le 50 p. 100 environ du rendement du témoin (même milieu additionné de sulfate de magnésium à 0,124 p. 100).

La formation des sclérotes est par contre presque totalement inhibée.

Une concentration en $MgSO_4.7H_2O$ égale au dixième ou au double de celle du témoin, donne le même rendement que ce dernier.

L'addition de Mg seul, sous forme de chlorure de magnésium,

ou de S seul, sous forme de sulfate de sodium, n'apporte aucune amélioration au développement obtenu dans le milieu de base.

L'association par contre de ces deux sels à une concentration telle qu'il y ait la même quantité de Mg et de S que chez le témoin, permet un développement égal à celui de ce dernier.

L'inhibition de la formation des sclérotes en l'absence de Mg et de S ou des deux à la fois est beaucoup plus accentuée que celle de la production de mycélium.

BIBLIOGRAPHIE

[1] *Démétriadès S. D.* 1951. Études sur la biologie du Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee. I. L'influence de la pression osmotique du milieu. Ann. de l'Inst. Phytopath. Benaki, 5 (2) : 65-75

[2] *Démétriadès S. D.* 1952. Études sur la biologie du Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee. II. L'utilisation de diverses sources de carbone. Ann. de l'Inst. Phytopathol. Benaki, 6 (2) : 51-59

[3] *Hawker L. E.* 1950. Physiology of fungi.

[4] *Newton W.* 1946. The growth of Sclerotinia sclerotiorum and Alternaria solani in simple nutrient solutions. Sc. Agr. 26 : 303-304.

[5] *Rabinovitz-Sereni D.* 1933. Influenza del magnesio sullo sviluppo di alcuni funghi. Boll. R. Staz. di Pat. Veg. 13 : 203-226.

[6] *Tanrikut S. and Vaughan E. K.* 1951. Studies on the physiology of Sclerotinia sclerotiorum. Phytopathology, 41 : 1099-1103.

RAPPORT SUR LES TRAVAUX DE LUTTE CONTRE LE TÉTRANYQUE DU COTONNIER DANS LA RÉGION DE COPAÏS EN 1951

par

C. B. KORTZAS ET E. D. PÉLÉCASSIS

Ces travaux font suite aux expériences entreprises en 1949 en collaboration avec l'Office Hellénique du Coton. Les rapports sur les résultats des campagnes 1949 et 1950 ont été publiés dans les «Annales» de l'Institut de 1951.

I. Choix et disposition du champ d'essais.

Le champ d'expériences de 1951, d'une étendue de 24 stremmes à peu près, situé à 4 km au N. O. du village d'Orchoménos, fut divisé en 20 parcelles, chacune d'un stremme environ.

La distribution des parcelles fut faite au hasard, à l'exception de celles destinées aux soufrages, qui furent disposées sur la partie orientale du champ, séparée du reste par une large rigole d'irrigation. Cette disposition permettait d'exclure, dans une certaine mesure, le facteur de l'influence du soufre sur les autres parcelles.

Le côté sud de notre champ était séparé par une route du cours principal du ruisseau Mélas. Les trois autres côtés touchaient à d'autres plantations de coton. Le champ d'expériences fut semé en ligne, vers la mi-avril, avec la variété américaine Floyd; les distances entre les lignes étaient de 40 à 45 cm. et sur les lignes de 20 à 25 cm.

Le développement des plantes était régulier et uniforme. Durant la période culturale, la plantation reçut les soins culturaux habituels.

La végétation spontanée sur les rigoles etc. avait été détruite tôt au printemps par des moyens mécaniques.

II. Produits insecticides appliqués.

On a essayé dans la campagne 1951 les produits acaricides suivants:

P1-a	E2-a	T1	P3-*b*	P1-*b*	T3	P3-c	P2-*b*	S1-a	T5
810	914	1335	1123	942	1131	1134	1017	130	1127
E1-a	P3-a	T2	Er-*b*	P2-a	T4	E2-*b*	P1-c	S1-*b*	T6
1027	863	1180	910	1192	1274	955	1198	152	1148

P1 = 1‰ PESTOX 3 *H*
P2 = 2‰ "
P3 = 3‰ "

E1 = 0.6‰ E P N 300
E2 = 1.2‰ "
S = SOUFRE TRÈS FIN
T = TÉMOIN

DISPOSITION DU CHAMP D'ESSAIS

Les chiffres sur les parcelles expérimentales indiquent le nombre des tétranyques vivants sur 20 feuilles lors de la dernière observation (16 août 1951)

1. Pestox 3H émulsifiable (66% en matière active) de la Maison anglaise Pest Control Ltd.

Trois concentrations furent utilisées, correspondant à 1‰, 2‰ et 3‰ de substance active; on a répété chacune des concentrations 1‰ et 3‰ sur trois parcelles, et le 2‰ sur deux parcelles.

2. Poudre mouillable EPN 300 de la Maison Du Pont de Nemours, aux dosages de 0,6‰ et 1,2‰ en principe actif et à deux répétitions pour chaque cas.

3. Soufre très fin de la Maison américaine Niagara, passant pour le 98% par le tamis américain No 325; répété sur deux parcelles.

4. Six parcelles ne reçurent aucun traitement, pour servir de témoin.

III. Nombre et époque des traitements.

1. Pestox 3H. On a fait deux pulvérisations sur les parcelles respectives, aux dates de 15 juin et 26 juillet. Lors du premier traitement, les plantes mesuraient 15 à 20 cm. et la dépense de liquide était de 100 litres environ par stremme. Pendant la deuxième pulvérisation, les plantes ayant atteint 50 à 60 cm., la consommation moyenne monta à 130 litres par stremme.

2. EPN 300. Deux pulvérisations furent appliquées sur les parcelles respectives, le 4 et le 26 juillet. On ajoutait dans la bouillie de EPN le produit mouillant Agral (25 gr. par 100 litres de liquide). La dépense par stremme était de 120 litres environ lors du premier et de 140 litres à peu près lors du second traitement.

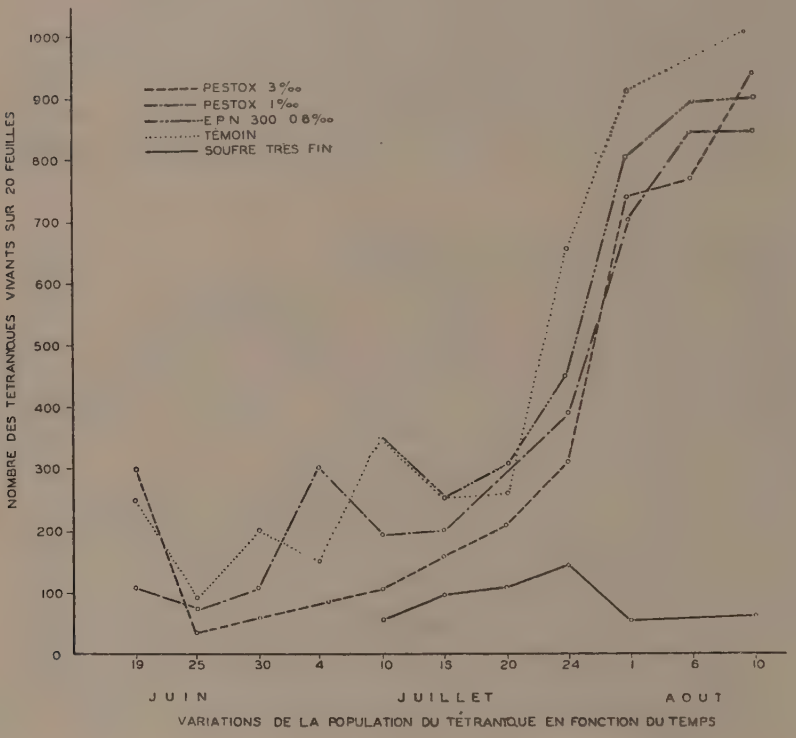
3. Soufre très fin. On a fait deux poudrages, aux dates de 4 et 26 juillet; la dépense en était de 4 et 5 kg. par stremme respectivement.

IV. Résultats obtenus.

Pour l'évaluation de l'efficacité des traitements appliqués on enlevait, tous les cinq jours, 20 feuilles sur chacune des parcelles; pour cela on choisissait arbitrairement un certain nombre de plantes dans le centre de chaque parcelle et on y prélevait au hasard les feuilles nécessaires. Sur ces feuilles on dénombrait à l'aide de la loupe binoculaire les tétranyques vivants. La comparaison aux témoins donne une idée de la mortalité naturelle.

Les résultats obtenus figurent sur le tableau suivant.

Si l'on transporte sur un système de coordonnées les indications de ce tableau résumant le nombre moyen de tétranyques vivants pour chaque insecticide et les dates des observations, on obtient le graphique ci-dessous pour le développement du tétranyque dans les diverses parcelles expérimentales :



De ces indications, ainsi que des observations faites durant les expériences, résultent les conclusions suivantes sur l'effet des divers produits examinés :

1. On constate pour le *pestox 3H*, au commencement de son application (15 juin jusqu' aux premiers jours de juillet) une certaine efficacité, qui se manifeste par un arrêt provisoire du développement de l'acarien. C'est ainsi qu'en comparaison avec les témoins, on observe pendant cette première période un nombre moindre de tétranyques vivants sur les feuilles et un pourcentage plus petit de plantes attaquées ; ces différences sont plus marquées dans les parcelles traitées à la forte concentration de $3\frac{1}{2}$‰.

TABLEAU I

Nombre des Tétranyques vivants trouvés sur 20 feuilles par rapport aux traitements reçus aux dates d'observations

N° d'ordre	Produits essayés	Concentration en matière active	Répétitions	Dates de traitement	Dates des observations											
					19/6/51	25/6/51	30/6/51	4/7/51	10/7/51	16/7/51	20/7/51	24/7/51	1/8/51	6/8/51	10/8/51	16/8/51
1	Soufre	—	a	4/7, 26/7	—	—	—	—	62	87	102	137	36	51	66	130
			b	» »	—	—	—	—	38	109	141	146	64	51	60	152
				Moyenne.....	—	—	—	—	50	98	121,5	141,5	50	51	63	141
2	EPN 300	1,2 °/₀₀	a	4/7, 26/7	—	—	—	—	82	430	390	735	865	1192	995	914
			b	» »	—	—	—	—	230	316	341	435	850	940	971	955
				Moyenne.....	—	—	—	—	156	373	365,5	585	857,5	1066	983	934,5
3	EPN 300	0,6 °/₀₀	a	4/7, 26/7	—	—	—	—	581	152	264	473	766	963	926	1027
			b	» »	—	—	—	—	146	342	387	438	846	867	912	910
				Moyenne.....	—	—	—	—	363,5	247	325,5	455,5	806	905	919	968,6
4	Pestox 3 H	1 °/₀₀	a	15/6, 26/7	251	140	210	542	135	246	271	435	720	825	843	810
			b	» »	73	45	140	298	160	128	135	341	762	882	851	942
			c	» »	34	39	12	66	265	224	262	330	620	830	832	1198
				Moyenne.....	119,3	76,3	120,6	302	186,6	199,3	222,6	368,6	700	845,5	842	983,3
5	Pestox 3 H	3 °/₀₀	a	15/6, 26/7	367	3	60	165	42	158	171	233	774	605	930	863
			b	» »	466	40	54	45	69	220	310	360	663	833	977	1123
			c	» »	67	63	86	22	200	114	181	330	770	850	903	1134
				Moyenne.....	300	35,3	66,6	77,3	103,7	164	220,6	307,6	735,6	762,6	936,6	1040
6	Pestox 3 H	2 °/₀₀	a	15/6, 26/7	60	35	101	158	135	238	176	272	650	838	981	1192
			b	» »	232	11	31	100	209	91	106	271	744	1070	881	1017
				Moyenne.....	146	23	66	129	172	164,5	141	271,5	697	999	931	1104,5
7	Témoin ...	—	T_1	—	203	120	190	186	331	250	216	741	823	1088	1123	1335
			T_2	—	301	66	211	104	309	239	242	678	924	1292	978	1180
			T_3	—	—	—	—	—	380	294	330	616	943	900	860	1131
			T_4	—	227	106	195	165	408	275	308	644	877	994	1053	1274
			T_5	—	264	87	203	134	359	256	275	611	960	1110	1016	1127
			T_6	—	—	—	—	—	365	260	285	710	932	1046	922	1148
				Moyenne.....	248,7	94,7	200	147,2	358,6	262,3	276	666,6	909,8	1076,6	992	1199

Mais, un peu plus tard, on se rend compte que l'action de cette substance a une durée limitée et dépend de l'âge de la plante traitée. C'est ainsi que le tétranyque recommença à se propager très vite, entre le 10 et le 15 juillet, sur la plupart des parcelles traitées au pestox. Après la deuxième pulvérisation, effectuée à une époque où les plantes avaient atteint leur plein développement (26 juillet), aucune différence appréciable ne pouvait être discernée entre les parcelles traitées et les témoins.

Il serait opportun, au cas où les essais au pestox 3H seraient repris, de faire aussi une analyse chimique et, si possible, une détermination quantitative de ce produit dans la plante, à divers stades de son développement.

2. *EPN 300.* Cet insecticide présente, il est vrai, un pourcentage de mortalité supérieur à celui du produit précédent, mais son efficacité relative n'arrive pas à freiner d'une manière utile le développement du tétranyque. Pendant la période critique (deuxième quinzaine de juillet et commencement d'août) les acariens se multiplient rapidement sur les plantes traitées. La deuxième pulvérisation (26 juillet) n' a eu, non plus avec cet insecticide, aucun effet notable sur la pullulation des tétranyques.

La courbe du développement de l'acarien sur les parcelles traitées suit celle des témoins. On a indiqué sur le graphique la courbe pour la concentration 0,6‰ mais celle de la concentration au double, 1,2‰ a, à peu près, le même trajet.

3. Le *soufre* très fin s'est avéré, aussi dans les travaux de la campagne 1951, comme le plus efficace des produits essayés jusqu' à présent contre le tétranyque.

Les deux parcelles où le soufre fut appliqué montraient, vers la fin juin, les premières taches éparses du tétranyque; l'attaque était plus intense sur les dernières lignes des plantes, le long de la rigole sud d'irrigation. Après le premier poudrage, appliqué le 4 juillet, l'intensité de l'attaque diminua et son extension sur le moment s'arrêta. Ces résultats favorables étaient encore manifestes jusqu' au 20 juillet environ; mais vers cette date, de nouvelles infestations furent notées. Ces invasions se propagaient rapidement, de sorte que, lors du deuxième soufrage, qui eut lieu le 26 juillet, un certain nombre de feuilles et de fleurs étaient déjà tombées. Après le deuxième poudrage, le progrès de l'attaque put de nouveau être retardé, mais il faut mentionner que la protection des parcelles en question aurait été beaucoup plus satisfaisante si l'on avait soufré trois fois au lieu

de deux ; le deuxième soufrage devrait être exécuté entre le 15 et 20 et le troisième avant la fin juillet.

Il semble donc qu'on pourrait affirmer que le nombre de soufrages nécessaires pour protéger d'une manière efficace la production devrait être, pendant les années de fortes attaques, trois au moins.

ACTION DU SOUFRE SUR LE COTONNIER INDIGÈNE (GOSSYPIUM HERBACEUM)

Depuis quelques années, et déjà avant la généralisation de l'usage du soufre dans la culture du coton, les cultivateurs avaient observé que le soufre a une action défavorable sur la variété indigène «Dadiotico», qui appartient à l'espèce Gossypium herbaceum. Si, lors des soufrages de vignes, ou de cultures maraîchères etc., le vent transportait des particules de soufre et les déposait sur les plantes de Dadiotico d'un champ voisin, celles-ci subissaient des dommages.

Afin de vérifier le degré de susceptibilité du cotonnier Dadiotico, nous avons procédé au soufrage d'un champ semé de cette variété. Après quelques jours, on pouvait se rendre compte que presque toutes les plantes étaient, en tout ou en partie, desséchées ; la chute des fleurs était totale, celle des feuilles plus restreinte. Ces plantes ne se rétablirent pas sensiblement jusqu'à la fin de la saison.

Sur un autre champ de Dadiotico, situé à une distance de 100 m environ du précédent, on a observé des symptômes analogues sur un coin par où passa la nuée du soufre emporté par le vent.

Nous ne savons rien de concret sur les causes de cette action physiologique du soufre ; la question mérite peut-être d'être serrée de plus près. Nous n'avons pu trouver aucun renseignement y relatif dans la bibliographie qui est à notre disposition.

ÉTUDES SUR LA BIOLOGIE DU *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM (LIB.) MASSEE.*

IV. L'UTILISATION DE DIVERSES SOURCES D'AZOTE

par

STÉPHANE D. DÉMÉTRIADÈS

Dans un précédent travail (5) nous avions étudié l' utilisation, par *Sclerotinia sclerotiorum,* de différentes sources de carbone. En poursuivant nos recherches sur la biologie de cette espèce (4, 5, 6,) nous avons examiné l'action de diverses substances azotées sur la croissance du mycélium et la formation des sclérotes.

Parmi les travaux concernant l'alimentation azotée des champignons (7, 8, 13, 15) on en trouve un petit nombre qui se rapportent au *Sclerotinia sclerotiorum.* D'après Newton (10) les sels ammoniacaux exercent une légère action inhibitrice sur cette espèce par rapport aux nitrates, et l'asparagine, bien qu' elle puisse servir de source d'azote d'une manière satisfaisante, est bien inférieure aux nitrates et aux sels ammoniacaux.

Plus récemment Tanrikut et Vaughan (16) en étudiant l'alimentation azotée de ce même champignon ont trouvé que cette espèce utilise également bien les nitrates et les sels ammoniacaux ; selon ces auteurs l'asparagine serait une excellente source d' azote, tandis que l'urée serait toxique à partir de concentrations supérieures à 0,5 gr. par litre.

Nos expériences sur le même sujet, faites indépendamment des précédentes, sont exposées dans ce qui suit.

TECHNIQUE ET MATÉRIEL

Le milieu utilisé pour la culture de notre espèce était le suivant:

KH_2PO_4	1.250 gr.
$MgSO_4.7H_2O$	0.625 »
$FeCl_3$	0.005 »
Glucose	50.000 »
Eau distillée	1000 cc

A ce milieu de base nous ajoutions les différentes substances azotées à la concentration de 0,025 Mol. par litre.

Les substances que nous avons utilisées étaient les suivantes: Nitrate de potassium, nitrate d'ammonium, sulfate d'ammonium, peptone, urée, glycine, dl-methionine, dl-valine, l (—) leucine, acide aspartique, acide glutamique, dl-lysine (HCl), l (+) cystéine (HCl), l (—) cystine, l (—) tyrosine, dl-tryptophane et l-asparagine.

La culture de notre champignon se faisait, comme dans nos expériences précédentes (4,5,6), dans des fioles coniques en Pyrex de 250 cc de capacité, contenant 25 cc de solution nutritive, stérilisée à 115° C pendant 20 minutes. L' inoculation se faisait au moyen d'un sclérote; au bout de 20 jours d'incubation à 25° C, les cultures furent filtrées, lavées et desséchées à 105° C pendant 24 heures. Les moyennes présentées correspondent à cinq cultures pour chaque groupe.

RÉSULTATS

1. Rendement en matière sèche. Pour avoir des résultats comparables nous avons considéré le rapport du poids de la matière sèche obtenue par culture, par la quantité d' azote disponible, en évaluant le rendement obtenu avec le nitrate de potassium à 100. Nous avons préféré cette façon d'exprimer les résultats pour deux raisons: 1) parce que les substances utilisées à la concentration constante de 0,025 Mol. avaient une teneur en azote variable et 2) parce que des acides aminés dl- n'est, à priori, utilisable que la fraction l- qui se rencontre habituellement dans la nature.

Les résultats ainsi calculés nous montrent que le nitrate et le sulfate d'ammonium sont nettement inférieurs au nitrate de potassium (voir tableau). Parmi les acides aminés utilisés, la glycine, l'acide aspartique, l' acide glutamique et la tyrosine donnent les mêmes résultats que le nitrate de potassium (voir tableau et graphique).

La peptone d'autre part se présente comme bien supérieure à toutes les autres substances en question. Les autres acides aminés et l'urée donnent un rendement inférieur à celui du témoin (KNO_3), tandis que la dl-lysine (HCl) n'est presque pas utilisée par notre champignon.

2. Formation des sclérotes. Le nombre des sclérotes formés ne suit pas toujours le rendement de la culture en matière sèche. Ainsi l' asparagine et l'urée permettent la formation d'un nombre de sclérotes égal à celui du témoin (KNO_3), bien que le rendement en matière sèche soit inférieur.

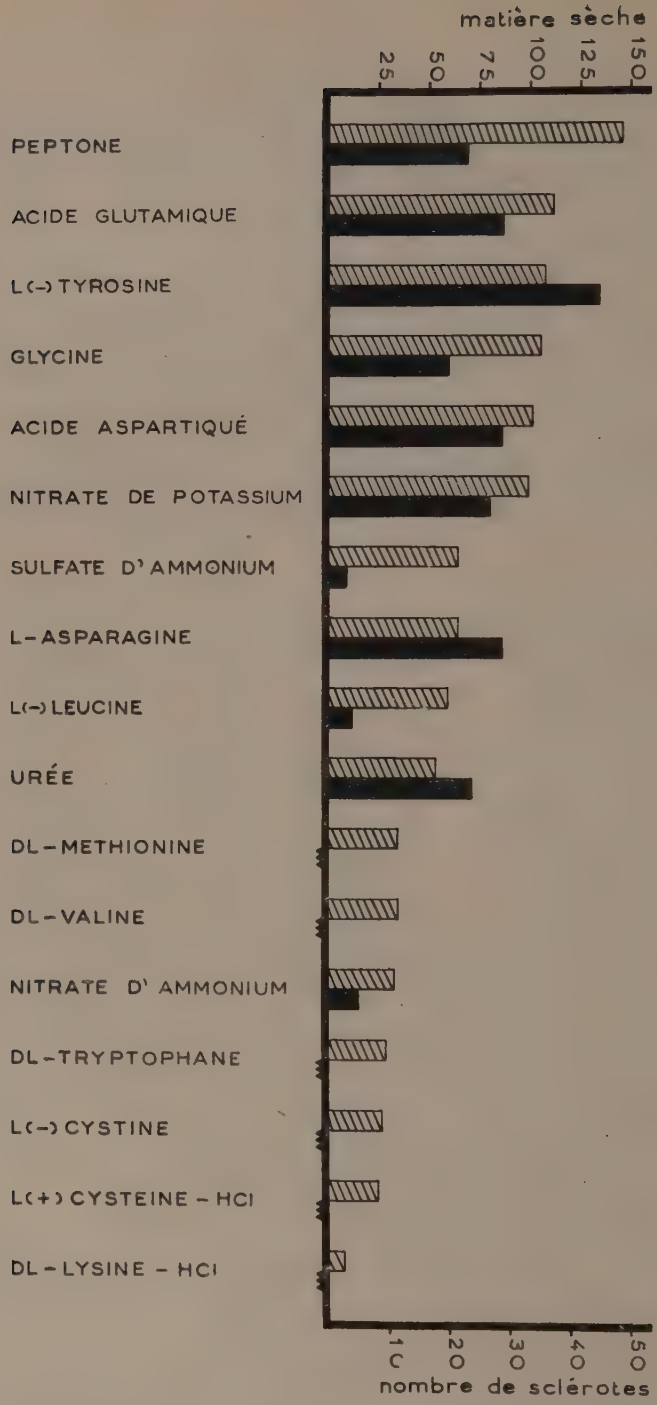
D'un autre côté la peptone, malgré son influence très favorable sur la croissance du mycélium, ne présente pas de différence, quant au nombre de sclérotes, avec le témoin.

TABLEAU

L'utilisation de diverses sources d'azote par le *Sclerotinia sclerotiorum*

Substance azotée utilisée	Rendement en matière sèche par gr. d'azote disponible* gr.	Signification des résultats **	Nombre de sclérotes formés par culture*	Signification des résultats **
Nitrate de potassium (témoin) ...	100	—	27	—
Nitrate d'ammonium	33	S	5	S
Sulfate d'ammonium	65	S	3	S
Glycine	106	ns	20	ns
l-Asparagine	65	S	29	ns
Acide aspartique	102	ns	29	ns
Acide glutamique	112	ns	29	ns
l (+) Cystéine HCl.....	25	S	0	S
l (—) Cystine.....	27	S	0	S
l (—) Leucine	60	S	4	S
dl-Lysine HCl.....	8	S	0	S
dl-Methionine.....	35	S	0	S
dl-Tryptophane	29	S	0	S
l (—) Tyrosine	108	ns	45	ns
dl-Valine.....	35	S	0	S
Peptone.....	146	S	23	ns
Urée	54	S	24	ns

* moyenne de cinq cultures
** S = significatif au seuil de 0,01
ns = non significatif



Le développement du *Sclerotinia sclerotiorum* sur un milieu synthétique, en présence de diverses substances azotées. Les colonnes hachurées représentent le rendement en matière sèche, celles en noir le nombre des sclérotes formés.

On peut en outre constater que les substances qui donnent le même rendement en matière sèche, comme par exemple le sulfate d' ammonium, l'asparagine, la leucine, et l'urée, présentent des différences frappantes quant au nombre des sclérotes formés. La cystéine, la cystine, la lysine, la methionine, la valine et le tryptophane inhibent d'une manière totale la formation des sclérotes.

La leucine, le sulfate et le nitrate d'ammonium sont, d'autre part, de très mauvaises sources d'azote en ce qui concerne la production de sclérotes.

DISCUSSION

Robbins (11) a proposé une classification physiologique des champignons en se basant sur l'utilisation de l'azote atmosphérique, nitrique, ammoniacal et organique. Le *Sclerotinia sclerotiorum* appartient au deuxième groupe de cette classification, puisqu'il utilise les nitrates. De ce fait il devrait pouvoir utiliser également bien l'azote ammoniacal.

Nos résultats nous montrent cependant que l'azote ammoniacal est très mal utilisé par cette espèce. Cette donnée, se rapprochant à celles d'autres auteurs (10,15), suggère que le fait pour un champignon utilisant les nitrates, d'utiliser également bien les sels ammoniacaux, n'est pas une règle générale. Newton (10) a en effet aussi constaté que l'NH_4 exerce une légère action inhibitrice sur le développement du *Sclerotinia sclerotiorum*, mais une très nette quand il s'agissait de l'*Alternaria solani*. Dans nos essais, l'inhibition causée par les sels ammoniacaux est très marquée sur le *Sclerotinia sclerotiorum*. Ces résultats sont en désaccord avec ceux de Tanrikut et Vaughan (16), qui ont trouvé que l'espèce en question utilise très bien l'NH_4. L'*Helminthosporium gramineum* utiliserait, au début de son développement, mieux les sels ammoniacaux que les nitrates (3).

L'utilisation des acides aminés, en l'absence de tout azote inorganique, varie suivant les espèces envisagées.

La glycine s'est montrée comme une excellente source d'azote pour notre champignon, ayant une valeur égale à celle du nitrate. Il en est, d'ailleurs, de même pour d'autres espèces comme, par exemple, pour *Aspergillus niger* (14), *Ustilago zeae* (17) et plusieures levures (15). Par contre l'*Endoconidiophora fagacearum* ne se développe que très pauvrement avec cette substance (1). La glycine d'autre part ne permet aucune croissance aux *Leptomitus lacteus* et *Apodachlya brachynema*, à moins qu'on lui associe l'acétate de sodium à 0,2% (12).

La tyrosine est aussi bien utilisée par le *Sclerotinia sclerotiorum*, que le nitrate de potassium. Elle est également utilisée par diverses espèces de levures (15), mais elle représente une mauvaise source d'azote pour *Ustilago zeae* (17) et *Endoconidiophora fagacearum* (1).

L'asparagine nous a donné un assez bon développement, bien qu'inférieur à celui produit par le KNO_3. Elle permet toutefois un rendement équivalent à celui du sulfate d'ammonium et supérieur de presque 100 p. 100 de celui du nitrate d'ammonium. Ceci corrobore, en partie du moins, les résultats de Newton (10). Selon les résultats récents de Wolf (17), l'*Ustilago zeae* utiliserait aussi bien l'asparagine que l'acide aspartique, le nitrate de sodium et le sulfate d'ammonium. Dans le cas d'*Endoconidiophora fagacearum* l'asparagine permet une croissance aussi bonne que celle observée avec l'acide aspartique (1). L'asparagine est de même très bien utilisée par les espèces de *Taphrina* étudiées par Mix (9). Par contre elle ne permet aucun développement dans le cas de *Leptomitus lacteus* et d'*Apodachlya brachynema*, à moins que le milieu soit additionné d'acétate de sodium à la concentration de 0,2 % (12).

Le *Sclerotinia sclerotiorum* donne avec la leucine presque un aussi bon rendement qu'avec l'asparagine. L'*Ustilago zeae* utiliserait aussi bien la leucine que le nitrate de sodium (17). Cette substance permet aussi le développement du *Leptomitus lacteus* et de l'*Apodachlya brachynema* (12). La leucine n'est pourtant pas utilisée par l'*Endoconidiophora fagacearum* (1).

Les autres acides aminés essayés dans nos expériences ne permettent que de mauvais rendements, bien au dessous du 50 % du témoin; c'est le cas de la cystéine, la cystine, la methionine, la valine, la lysine et le tryptophane. La lysine provoque même une très forte inhibition. Avec l'*Ustilago zeae* les résultats sont pourtant différents (17); la lysine, la methionine et la valine donneraient presque d'aussi bons rendements que le nitrate; le tryptophane en donnerait de moins bons, la cystéine de très pauvres et la cystine ne serait presque pas utilisée. Suivant d'autres données, le tryptophane et la methionine permettent des rendements médiocres à l'*Endoconiodophora fagacearum*, tandis que la cystine, la cystéine et la lysine seraient très mal ou nullement utilisées. (1). Pour *Aspergillus niger* le rendement avec le tryptophane est égal au 50 % de celui du nitrate; avec la cystéine et la cystine il est très pauvre et avec la methionine presque nul (14).

L'urée n'atteint que le 50% environ du rendement en matière

sèche du nitrate de potassium; elle permet néanmoins la formation d'un grand nombre de sclérotes. D'après Tanrikut et Vaughan (16) l'urée serait toxique au *Sclerotinia sclerotiorum* à une concentration supérieure à 0,5 gr. par litre. La croissance serait nettement ralentie à la dose de 1 gr. et complètement arrêtée à la concentration de 3,5 gr. par litre. La concentration utilisée par nous correspondait à 1,5 gr. par litre. Il est à noter que l'urée même à cette dose permet un rendement supérieur à celui présenté par le nitrate d' ammonium. Selon Mix (9), l'urée est utilisée par toutes les espèces du genre *Taphrina* que cet auteur a étudiées.

Enfin la peptone se présente pour le *Sclerotinia sclerotiorum* comme la meilleure source d'azote. La complexité cependant de sa composition ne permet pas une comparaison avec les autres substances utilisées.

Il faudrait souligner que la formation des sclérotes est particulièrement influencée par certaines substances indépendamment de l'action de celles-ci sur la croissance du mycélium. Ce phénomène fut noté à plusieurs reprises (5, 6).

Les champignons qui sont incapables de se développer au dépens de l'azote inorganique (2) utilisent certainement les acides aminés indispensables d'une manière directe. Pour d' autres espèces qui se développent bien sur des milieux ne contenant que de l'azote nitrique ou ammoniacal, l'on pourrait se demander si les acides aminés ne servent que comme source d'azote ammoniacal à la suite d'une désamination préalable (15).

Le fait que l' NH_4 est très mal utilisé par le *Sclerotinia sclerotiorum*, par rapport au nitrate de potassium et que certains acides aminés sont aussi efficacement utilisés que le nitrate et d'une manière bien supérieure aux sels ammoniacaux, montre qu'en l'occurrence les acides aminés sont effectivement utilisés tels quels et non comme source d' NH_4 après leur désamination.

RÉSUMÉ

Le *Sclerotinia sclerotiorum* se développant sur un milieu synthétique (solution de Richard diluée au quart) et en présence de diverses sources azotées donne les résultats suivants:

Parmi les sels minéraux le nitrate de potassium permet un rendement en matière sèche de beaucoup supérieur à celui du nitrate ou du sulfate d'ammonium.

Des rendements égaux à celui du nitrate de potassium (considéré comme témoin) donnent la glycine, l'acide aspartique, l'acide glutamique et la tyrosine.

L'asparagine, la leucine et le sulfate d'ammonium donnent un rendement inférieur à celui des substances précédentes et égal au 60 p. 100 environ du témoin.

Le nitrate d'ammonium, la cystéine, la cystine, la methionine, le tryptophane et la valine donnent un rendement médiocre ne dépassant pas le 35% du témoin. La lysine inhibe très fortement la croissance; l'urée se rapproche de l'asparagine et la peptone donne les meilleurs résultats de toutes les substances utilisées.

Quant à la formation des sclérotes, la glycine, l'asparagine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, la tyrosine, la peptone et l'urée donnent le même nombre de sclérotes que le nitrate de potassium; le nitrate et sulfate d'ammonium et la leucine en produisent un très petit nombre. La cystéine, la cystine, la lysine, la methionine, le tryptophane et la valine inhibent complètement la formation de sclérotes.

BIBLIOGRAPHIE

[1] *Beckman C. H., Kuntz J. E. and Riker A. J.* 1953. The growth of the oak wilt fungus with various vitamins and carbon and nitrogen sources. Phytopathology, 43 : 441-447.

[2] *Cantino E. C.* 1949. The physiology of the aquatic phycomycete Blastocladia Pringsheimii, with emphasis on its nutrition and metabolism. Amer. J. Bot. 36 : 95-112.

[3] *Converse R. H.* 1953. The influence of nitrogenous compounds on the growth of Helminthosporium gramineum in culture. Mycologia, 45 : 335-344.

[4] *Démétriadès S. D.* 1951. Études sur la biologie du Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee. I. L'influence de la pression osmotique du milieu. Ann. de l'Inst. Phytopath. Benaki, 5 : 65-75.

[5] *Démétriadès S. D.* 1952. Études sur la biologie du Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee. II. L'utilisation de diverses sources de carbone. Ann. de l'Inst. Phytopath. Benaki, 6 : 51-59.

[6] *Démétriadès S. D.* 1953. Études sur la biologie du Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Massee. III. L'action du magnésium et du soufre sur le développement du champignon et la formation de ses sclérotes Ann. de l'Inst. Phytopath. Benaki, 7 : 15-20.

[7] *Hawker L. E.* 1950. Physiology of fungi.

[8] *Lilly V. G. and Barnett H. L.* 1951. Physiology of fungi.

[9] *Mix A. J.* 1953. Differences of species of Taphrina in culture. Utilization of nitrogen compounds. Mycologia, 45 : 649-670.

[10] *Newton W.* 1946. The growth of Sclerotinia sclerotiorum and Alternaria solani in simple nutrient solutions. Sc. Agr. 26 : 303-304.

[11] *Robbins W. J.* 1937. The assimilation by plants of various forms of nitrogen. Amer. Journ. Bot. 24 : 243-250.
[12] *Schade A. L.* 1940. The nutrition of Leptomitus. Amer. Journ. Bot. 27 : 376-384.
[13] *Steinberg R. A.* 1939. Growth of fungi in synthetic nutrient solutions. Bot. Rev. 5 : 327-350.
[14] *Steinberg R. A.* 1942. Effect of trace elements on growth of Aspergillus niger with amino acids. Journ. Agr. Res. 64 : 455-475.
[15] *Steinberg R. A.* 1950. Growth of fungi in synthetic nutrient solutions. Bot. Rev. 16 : 208-228.
[16] *Tanrikut S. and Vaughan E. K.* 1951. Studies on the physiology of Sclerotinia sclerotiorum. Phytopathol. 41 : 1099.
[17] *Wolf F. T.* 1953. The Utilization of carbon and nitrogen compounds by Ustilago zeae. Mycologia, 45 : 516-522.

ESSAIS DE LABORATOIRE POUR DÉTERMINER L'ACTION DE DIVERS INSECTICIDES SUR LA MOUCHE DES OLIVES, *DACUS OLEAE ROSSI*

par

E. D. PÉLÉCASSIS

Ces travaux ont été exécutés durant l'hiver 1949—50 et avaient pour but la détermination comparative de l'action par contact et de l'effet résiduel d'un nombre d'insecticides organiques nouveaux sur les adultes du *Dacus*.

En dressant le plan de ces expériences, nous nous sommes efforcé d' assurer les conditions suivantes:

1) D'exclure, dans la mesure possible, le facteur d'une action éventuelle asphyxiante des insecticides sur les mouches. A cette fin nous avons évité d'utiliser des cages en bois fermées et nous nous sommes servi de cages en fil métallique, dont les mailles mesuraient 1,2 mm., de sorte que l'air y pouvait circuler librement.

2) D'obtenir une répartition autant que possible uniforme de l'insecticide sur les parois de la cage, en y déposant à peu près la même quantité de matière active par unité de surface.

Dans la première série de nos essais, nous avons fait dissoudre les insecticides dans l'acétone, aux proportions indiquées dans le tableau. A l'aide d'un petit pulvérisateur nous avons aspergé les cages avec les diverses solutions. Dans la deuxième série des expériences, nous avons employé comme solvant la benzine et nous avons plongé les cages dans les solutions respectives. C'est ce procédé qui garantissait la répartition la plus uniforme.

3) De permettre aux adultes du *Dacus* de rester sous l'action de contact des diverses substances essayées pour un temps indépendant d'autres facteurs.

L'évaluation des résultats s'appuyait sur le nombre d'insectes paralysés (knocked down) en fonction du temps.

On a essayé, dans les deux séries expérimentales, les matières suivantes: lindane, aldrin 25%, dieldrin 25%, D. D. T. technique, métoxychlor 50% et métoxychlor 90%.

Pour avoir toujours un nombre suffisant de mouches, nous élevions dans des hygrostats, sous des conditions de chaleur et d'humidité favorables, des pupes de *Dacus* provenant d'olives attaquées que nous recevions régulièrement de Crète.

Les adultes, au fur et à mesure qu' ils sortaient dans les hygrostats, étaient transportés dans des cages spéciales d'élevage, où ils se nourrissaient de solutions sucrées. On y enlevait, chaque fois qu'on en avait besoin, des mouches âgées de 2 à 7 jours au plus, que l'on introduisait aux cages en fil métallique préalablement traitées à la solution de l'insecticide sous essai.

Durant la période des essais nous avons élevé plus de 6000 adultes de *Dacus*. Les deux tableaux qui suivent résument les résultats des deux séries d'essais. Dans la première série, les mouches furent introduites dans les cages 1, 17 et 29 jours et, dans la deuxième, 1, 14 et 30 jours après le traitement.

Chaque fois on introduisait dans la cage 25 à 30 mouches et on enregistrait le temps écoulé jusqu' au commencement des phénomènes de paralysie, c'est-à-dire jusqu'à ce que la première mouche tombât, ainsi que le temps écoulé jusqu'à ce que toutes les mouches de la cage fussent frappées de l'action paralysante de l'insecticide.

Les cages témoins n'étaient pas traitées.

RÉSULTATS OBTENUS

PREMIÈRE SÉRIE

Les insecticides étaient dissous, aux proportions indiquées dans la colonne respective, dans l'acétone; les cages métalliques étaient aspergées avec cette solution à l'aide d'un petit pulvérisateur. Les mouches étaient introduites dans les cages ainsi traitées 1 jour, 17 jours et 29 jours après le traitement.

N° d'ordre	Insecticides	Proportion d'emploi	1 jour après le traitement — temps écoulé depuis l'introduction des insectes à la cage jusqu'		17 jours après le traitement — temps écoulé depuis l'introduction des insectes à la cage jusqu'		29 jours après le traitement — temps écoulé depuis l'introduction des insectes à la cage jusqu'	
			au commencement du knock down	à knock down de 100 %	au commencement du knock down	à knock down de 100 %	au commencement du knock down	à knock down de 100 %
1	Métoxychlor 50% (Marlate).....	2 %	25′	30′	30′	95′	40′	85′
2	DDT Kolker techn.	1 %	30′	85′	40′	90′	45′	90′
3	Lindane	1 %	30′	80′	40′	90′	50′	105′
4	»	0,5 %	30′	80′	40′	95′	45′	110′
5	Métoxychlor 90 %.....	1,1 %	30′	100′	40′	115′	50′	115′
6	Dieldrin 25 % (497 émulsifiable)...	1 %	35′	2 h. 25′	55′	2 h. 10′	90′	3 h. 15′
7	» » » ..	0,5 %	—	—	55′	2 h. 20′	90′	3 h 50′
8	Aldrin 25 % (118 émulsifiable)	1 %	50′	2 h. 25′	70′	2 h. 20′	90′	3 h. 15′
9	» » »	0,5 %	40′	2 h. 30′	65′	3 h. 10′	110′	3 h. 20′
10	Témoin	—	3 h.	3 h. 5′	2 h. 20′	4 h.	3 h.	3 h. 45′

DEUXIÈME SÉRIE

Les insecticides étaient dissous, aux proportions indiquées, dans la benzine et les cages métalliques étaient plongées dans la solution. Dans les cages ainsi traitées on introduisait les mouches 1 jour, 14 jours et 30 jours après le traitement.

N° d'ordre	Insecticides	Proportion d'emploi	1 jour après le traitement — temps écoulé depuis l'introduction des insectes à la cage jusqu'		14 jours après le traitement — temps écoulé depuis l'introduction des insectes à la cage jusqu'		30 jours après le traitement — temps écoulé depuis l'introduction des insectes à la cage jusqu'	
			au commencement du knock down	à knock down de 100 %	au commencement du knock down	à knock down de 100 %	au commencement du knock down	à knock down de 100 %
1	Métoxychlor 50 %.....	2 %	20′	80′	35′	2 h.	45′	105′
2	DDT Kolker techn.....	1 %	25′	80′	50′	2 h.15′	65′	2 h.30′
3	Métoxychlor 90 %.....	1,1 %	25′	95′	65′	2 h.30′	70′	2 h.20′
4	Lindane	1 %	25′	65′	2 h.	3 h.30′	45′	4 h.40′
5	Dieldrin 25 % (497 émulsifiable)...	1 %	80′	3 h.50′	100′	3 h.40′	90′	5 h.
6	» » » ...	0,5 %	—	—	120′	5 h.	—	—
7	Aldrin 25 % (118 émulsifiable)	1 %	65′	4 h.20′	4 h.	5 h.15′	4 h.	6 h.
8	» » » ...	0,5 %	—	—	4 h.	5 h.	—	—
9	Témoin	—	90′	4 h. 5′	4 h.	4 h.15′	3 h.	5 h.

ON THE SEXUALITY OF PHYTOPHTHORA PARASITICA DASTUR

by

V. KOUYEAS

OF THE PLANT PATHOLOGY LABORATORY,
AGRICULTURAL COLLEGE OF ATHENS*

Under laboratory conditions it is common for some species of Phytophthora to produce their sexual spores late and sparingly, or not at all. This is specially true for *P. parasitica Dastur* and such closely related species as *P. palmivora Butler* and *P. capsici Leon.* Since the sexual phenomena in these species seem to be alike (21), references concerning those species are mentioned in the following short review.

Heterothallism was first reported in Phytophthora by Clinton (1904-11). Since then, many instances have been reported where oospores were produced easily after mating two strains belonging to the same or different species (2,4,5,13,18,22,30). In most, this was believed to be due to heterothallism (1,6,7,14,15,23,31,32) or even to hybridism and very often the behaviour of mated cultures was considered of taxonomic value. The direct fusion of antheridia and oogonia of mated strains was observed by three different workers (11,21,23) and subsequent separation into male and female strains was determined.

Objections have been raised to the purported existence of heterothallism amongst species of Phytophthora. Such can be summarized as follows: 1. It has been observed that in mated cultures, both strains produce oogonia, i. e. both behave at the same time as females (3,20). 2. In the species reported as heterothallic, individuals exist which produce oospores in single strain cultures (33). To these objections one could add the fact that Dastur, when first described *P. parasitica*, had observed and illustrated antheridia and oogonia arising from the same hypha (35). This has not been reported since.

In 1931 Leonian (21) reported amongst the species *P. palmivora Butler, P. parasitica Dastur,* and *P. nicotianae Breda de Haan* (which he included in his species *P. omnivora*), strains which

* Now on a research scholarship at the Botany Department, Nottingham University, England, under Prof. C. G. C. Chesters.

could be distinguished as heterothallic, behaving either as males or females, strains of inconstant sex, strains which were neuter and strains which were homothallic. He further stated that: «The potentialities of both sexes may be present in some or all of these. One sex however is so much more dominant and the other so deeply submerged that the different strains behave as unisexual organisms». By this statement Leonian clearly demonstrated that he believed sexuality in Phytophthora to be relative (10).

THE STRAINS USED

In Greece collar rots caused by *P. parasitica Dastur* are very common, especially in the cultivated Solanaceae. Isolations from such hosts usually do not form oospores, or only do so infrequently in certain old cultures (26,27,28). During the years 1950-52, 76 isolations of *P. parasitica Dastur* were collected at the Plant Pathology Laboratory, Agricultural College of Athens, from six different hosts. These isolations came from different parts of the country and also from abroad. Of all these isolations only one, isolated from *Pistacia vera* L. formed oospores abundantly on oat-meal and potato dextrose agar in cultures 15-20 days old, and only did so during the first months after isolation. It soon ceased to form oospores, and during the period of the present investigation, oospores were never observed under routine transfer conditions.

However, some 18% of the collected isolates have been observed to produce oospores, on slopes of Quaker-oat agar, (60 gr. pulverised Quaker-oats, 16 gr. agar-agar, 1000 cc tap water, sterilized at 15 Lb. for 15') after two to six months. These slopes were protected from drying out, by a piece of paper sealed on the rim of the tubes, over the ordinary cotton wool plug, by thick gelatine solution. From each isolate, five cultures on such slopes were prepared at the same time, kept at room temperature, and examined the one after 15 days, and the others after 1, 2, 4 and 6 months, respectively. The presence or absence of oospores on these cultures, as well as other informations concerning the isolates, is given in Table 1.

This Table deals only with 35 isolates which were studied in this investigation. The remainder 41 were greek isolates from sesamum, tomato and egg-plant, none of which gave oospores in single strain culture. In mated cultures, they behaved in a similar manner to the remainder of the isolates from the same hosts.

All the strains appeared morphologically identical. All produced

papillate sporangia, and spherical chlamydospores. Oogonia were always amphigynous and the oospore sizes were within the range given for *P. parasitica Dastur.* All produced macroscopically visible growth after four days on corn meal agar (CMA) at 35° C. Such strains, according to Tucker (33), belong to the species *P. parasitica Dastur,* and the tobacco isolates to *P. parasitica Dastur var. nicotianae (Br. d. Haan) Tucker.* From these latter, the strain from Baarn (Tb1) could be distinguished by the production of more abundant aerial mycelium. During the time this work was carried on, no strain produced oospores on less than two months on Quaker-oat agar cultures. Strains isolated from each of the above six hosts, except the citrus strain, could be found producing oospores, in single strain cultures.

As can be seen from Table 1, oospores appear more frequently in the egg-plant strains, although here too, oospore production appears irregularly. Thus some strains gave oospores in cultures kept for two months and not in those kept for longer periods, and some isolations from a particular diseased plant produced oospores whereas other isolations from the same host failed to produce oospores.

Usually, only few oospores were found in single strain cultures, and in some of these cultures only three or five oospores could be observed. So the mean diameter for the oogonia given in Table 1, except for the tobacco and pistachio-tree isolates, are based on a limited number of oospores.

OOSPORE PRODUCTION ON MATED CULTURES

When the strains of Table 1 were mated, in all possible combinations, oospores appeared abundantly, in some combinations along the zone of contact as soon as the two colonies intermingled, whereas in other combinations oospores were never observed. Oospores could be observed on every medium tested, even on plain water agar. In some incompatible matings on such poor media as filtered oat-agar, or plain agar, the two colonies never came in contact.

In preliminary work in which three strains, from tomato, egg-plant and sesamum were used, it was found that if compatible strains were mated on Quaker-oat agar dishes, and incubated at 25°C for 15 days, oospores were always produced. So all the strains used were mated in all possible combinations on Quaker-oat agar, and incubated at 25°C. After 15 days these cultures were examined

TABLE I

Host Strain Collector and year of isolation	Place of isolation	Mean size of 50 sporangia	Oospore production on Quaker oats slopes oogonia diameter in μ					Growth on CMA after 4 days at 35° C. colony diameter in mm.	Chlamydospores mean diameter of 25 in μ
			15 days old	1 month old	2 months old	4 months old	6 months old		
T_1+ Tomato fruit, Baarn 1935	Baarn	46.8 × 30.8	—	—	—	—	—	25	29.6
T_2 » foot rot, Inst. Phyt. Benaki .. 1941	Aspropyrgos, Greece ...	45.3 × 37.2	—	—	—	—	—	26	32.4
T_3 » » » Agr. Coll. Athens ... 1950	Psychico, Athens	41.2 × 28.4	—	—	—	—	—	18	36.0
T_4 » fruit, Agr. Coll. Athens 1950	Island of Syros, Greece.	28.8 × 23.5	—	—	—	—	—	7	29.3
T_5 » foot rot, Agr. Coll. Athens 1951	Marcopoulo, Attica	38.4 × 30.7	—	—	—	—	—	6	37.2
T_{5a} * » » » » » » 1951	» »	41.8 × 36.2	—	—	—	few 28.4	—	29	35.7
T_6 » » » » » » 1951	» »	47.8 × 46.4	—	—	—	—	—	28	27.8
T_7 » » » » » » 1951	» »	29.2 × 26.4	—	—	—	—	—	11	41.0
T_8 » » » » » » 1951	» »	43.2 × 36.8	—	—	—	—	—	26	35.1
T_9 » » » » » » 1951	» »	39.4 × 32.6	—	—	—	—	—	10	29.9
T_{9a} * » » » » » » 1951	» »	38.7 × 35.6	—	—	—	—	few 29.4	10	36.3
T_{10}+ » » » Sherbakoff 1917	.....	33.4 × 31.2	—	—	—	—	—	8	39.4
E_1 Egg-plant, foot rot, Agr. Coll. Athens 1950	Psychico, Athens	36.7 × 28.5	—	—	few 26.20	—	—	7	29.9
E_2 » » » » » » 1950	New Smyrna, Athens...	33.3 × 29.2	—	—	few 28.20	few	few 25.3	12	40.1
E_3 » » » » « » 1951	Psychico, Athens	31.0 × 29.7	—	—	few 27.5	—	few 22.0	9	28.3
E_{3a} * » » » » » » 1951	» »	29.4 × 26.2	—	—	—	—	—	7	36.7
E_{3b} * » » » » » » 1951	» »	35.7 × 28.0	—	—	—	few 30.8	—	11	30.0
E_4 » » » » » » 1951	New Smyrna, Athens...	37.2 × 31.4	—	—	few	—	—	9	35.5
E_5 » » » » » » 1951	» » » ...	36.7 × 31.2	—	—	—	—	—	6	29.4
E_6 » » » » » » 1951	» » » ...	28.6 × 26.9	—	—	—	few	—	6	28.3
E_7 » » » » » » 1951	» » » ...	35.4 × 28.9	—	—	—	—	—	6	31.4
E_{7a} * » » » » » » 1951	» » » ...	33.3 × 28.1	—	—	—	—	many 21.8	5	29.8
E_8 » » » » » » 1951	» » » ...	32.8 × 28.2	—	—	—	few 28.3	—	5	35.2
S_1 Sesamum, foot rot, Agr. Coll. Athens 1950	Agr. Coll. Athens	29.7 × 29.5	—	—	—	—	—	24	33.7
S_2 » » » » » » 1951	» » »	23.2 × 19.8	—	—	—	—	—	slight	28.4
S_3 » » » » » » 1951	» » »	34.6 × 32.2	—	—	—	—	—	16	29.5
S_4 » » » » » » 1951	» » »	46.7 × 40.8	—	—	—	—	—	slight	41.4
S_5 » » » » » » 1951	» » »	29.5 × 26.2	—	—	—	—	—	»	26.8
S_6 » » » » » » 1951	» » »	32.4 × 29.7	—	—	few 32.0	—	—	»	30.3
S_7 » » » » » » 1951	» » »	31.8 × 25.7	—	—	—	—	—	»	29.2
S_8 » » » » » » 1951	» » »	28.7 × 24.2	—	—	—	—	—	8	38.4
S_9 » » » » » » 1951	» » »	38.5 × 32.7	—	—	—	—	—	slight	40.5
S_{10} » » » « » » 1951	» » »	28.4 × 25.4	—	—	—	—	—	4	24.7
S_{11} » » » » » » 1951	» » »	31.8 × 22.2	—	—	—	—	—	5	38.3
S_{12} » » » » » » 1951	» » »	29.3 × 28.7	—	—	—	—	few 20.6	slight	41.3
Tb_1+ Tobacco black shank, Tucker 1928	Porto Rico	30.2 × 26.3	—	—	many 33.45	many 34.2	—	12	30.2
Tb_2 » » Inst. Phyt. Benaki 1951	Agrinion, Greece	26.3 × 32.4	—	—	—	—	—	31	29.3
Tb_3 » » » » » » 1951	» »	42.7 × 36.8	—	—	—	—	—	7	35.2
Tb_4 » » » » » » 1951	» »	41.9 × 35.9	—	—	—	—	—	20	33.4
P Pistachio tree foot rot. Agr. Coll. Athens 1951	Psychico, Athens	29.5 × 23.9	—	—	many 29.3	many	many	4	30.8
C+ Citrus 1934	.....	41.0 × 38.0	—	—	—	—	—	6	28.7

+ Received from Baarn.

* Isolated from the same plant as the preceding.

for the presence of oospores. The results of these matings are given in Fig. 1.

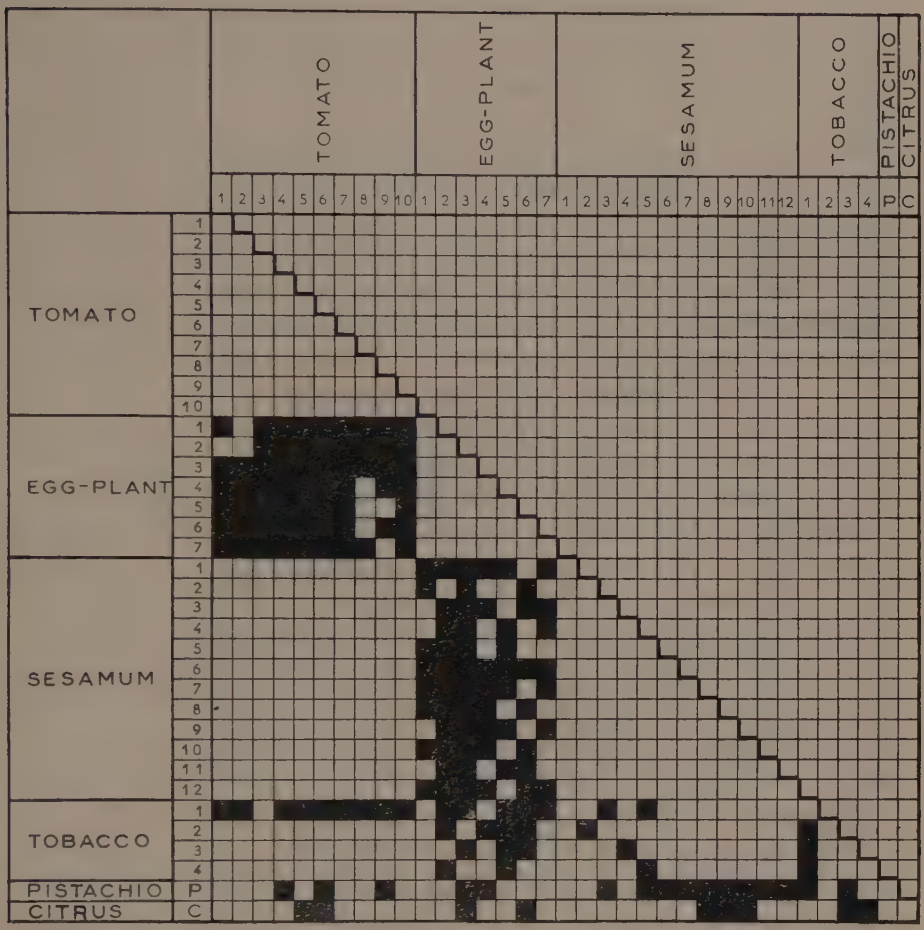


Fig. 1 Results of the matings of the different isolates ; ■ : fertile mating.

In these matings the isolates from tomato and sesamun behaved in a like manner and can be grouped together. Each only produced oospores when mated with the isolates from egg-plant and never if mated between themselves. A second group consisted of the isolates from egg-plant. The remaining isolates from tobacco, pistachio nut-tree and citrus form a third group. These strains gave oos-

pores when mated with members of both of the above groups and even when mated between themselves in certain combinations. This group can be considered identical with the inconstant group of Leonian (21). Sexually neutral strains have not been observed.

Leonian (21) observed that the size of the oogonia produced after the mating of two strains depends on the female strain. Considering the mean size of the oogonia produced by the crossings of Fig. 1, it can be observed that the strains from tomato, egg-plant and tobacco, behave in some crossings as females and in others as males. In Table 2, is given the mean size of 50 oogonia, of some crossings between the isolates from tomato, egg-plant and tobacco. This shows that in the TxE matings the tomato strains behave as females, and in the ExTb$_1$ matings, the egg-plant strains appears to behave as females.

TABLE 2

Mean size of the oogonia produced in some of the matings

	E_1	E_2	E_3	E_4	E_5	E_6	E_7	E_8	Tb_1
T4	29.16	26 80	24.33	27.21	27.41	29.16	28.22	28.68	35.63
T5	33.16	30.70	30.80	31.93	32.44	32.38	30.94	33.98	35.63
T6	28.33	26 90	25.56	29.00	27.31	27.10	27.23	26.05	36.00
E2	—	—	—	—	—	—	—	—	27.53
E3	—	—	—	—	—	—	—	—	25.67
E5	—	—	—	—	—	—	—	—	28.08
E6	—	—	—	—	—	—	—	—	28.28
E8	—	—	—	—	—	—	—	—	27.81

However, the facts do not seem to be exactly as they appear on Table 2, if we consider the class frequencies of the oogonial size in these matings, which is given in Fig. 2. The curves for the sizes of oogonia, excepting those of the T5xE matings, appear to have two peaks, i. e. in all of these matings both strains gave oogonia, and both appeared to act simultaneously as females. The oogonial size curves of the egg-plant matings show a peak at 26 μ, those of the to-

mato and sesamum matings a peak at 31 μ and of Tb_1 matings at 38 μ. Curves made from every mating of the sesamum, tomato, egg-plant and Tb1 strains always showed two peaks, corresponding to the above sizes.

From these curves it can be concluded with certainty that the characteristic oogonial sizes for the egg-plant, tomato and sesamum and Tb1 strains, are 26 μ, 31 μ and 38 μ respectively. From the same curves it can also be observed that the egg-plant strains, always gave in their matings more oogonia than their partners. The Tb1 strain gave the most oogonia only when mated with the tomato and sesamum strains whereas the latter strains always gave proportionally fewer oogonia than their partners. This however is not true for T5 which, as can be seen in graph G. Fig. 2, while behaving in the matings as did the remainder of the tomato and sesamum strains, giving oospores with the same partners as they did, none-the-less in the matings with egg-plant strains produced most, if not all, of the oogonia. This may also be seen in Table 2 where the mean oogonia size of T5xE matings is always greater than that of the remainder of the TxE crossings. However from the mating of T5XTb1, curves similar to C and D of Fig. 2 could be drawn.

A limited number of unsuccessful attempts were made to observe directly under the microscope the copulation between the gametangia of the mated strains, using a technique similar to that described by Narasimhan (23) but it was impossible to trace with certainty the origin of the fertile hyphae.

The two strains T8 and E3a were mated in liquid medium, on the opposite sides of porous clay barrier. The medium consisted of Petri's solution with the addition of saccharose (19) and with 0,00005 gr. of thiamin chloride per L of medium, as these fungi are heterotrophic for thiamin (29). The cultures were set up in jars in each of which a porous clay cell was placed. The bottom of both jar and cell was covered with a layer of glass fragments, and the medium was added so as only to cover the glass fragments. In this way aeration of the culture was secured. After plugging with cotton wool the jars were autoclaved at 10 Lb. pressure for 20 minutes. The porous cell was inoculated with one strain and the space between the cell and the jar walls with the other strain. The porous cells used, Schaar and Co Cat. No C 6830 size 1, 25×76 mm, were permeable to Congo red, litmus milk, soluble starch and methylene blue, in water solutions at 1: 200. The cultures were examined for the presence of oospores

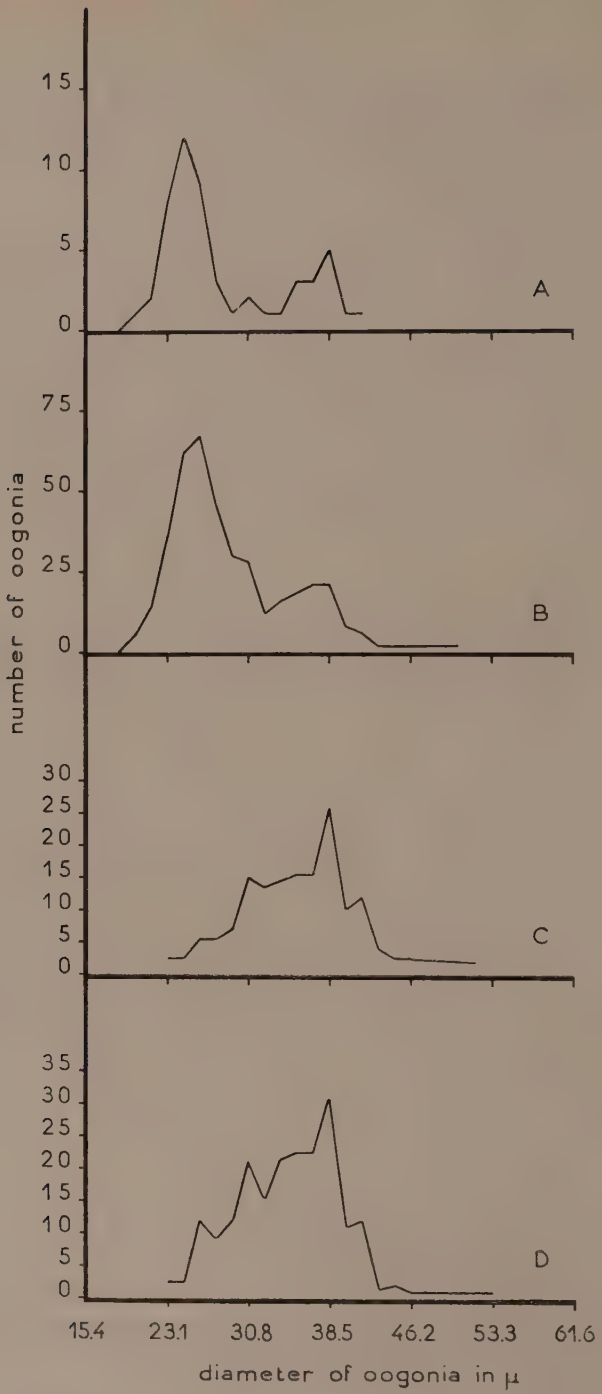

15
10
5
0
A
75
50
25
0
B
number of oogonia
30
25
20
15
10
5
0
C
35
30
25
20
15
10
5
0
D
15.4
23.1
30.8
38.5
46.2
53.3
61.6
diameter of oogonia in μ

Fig. 2

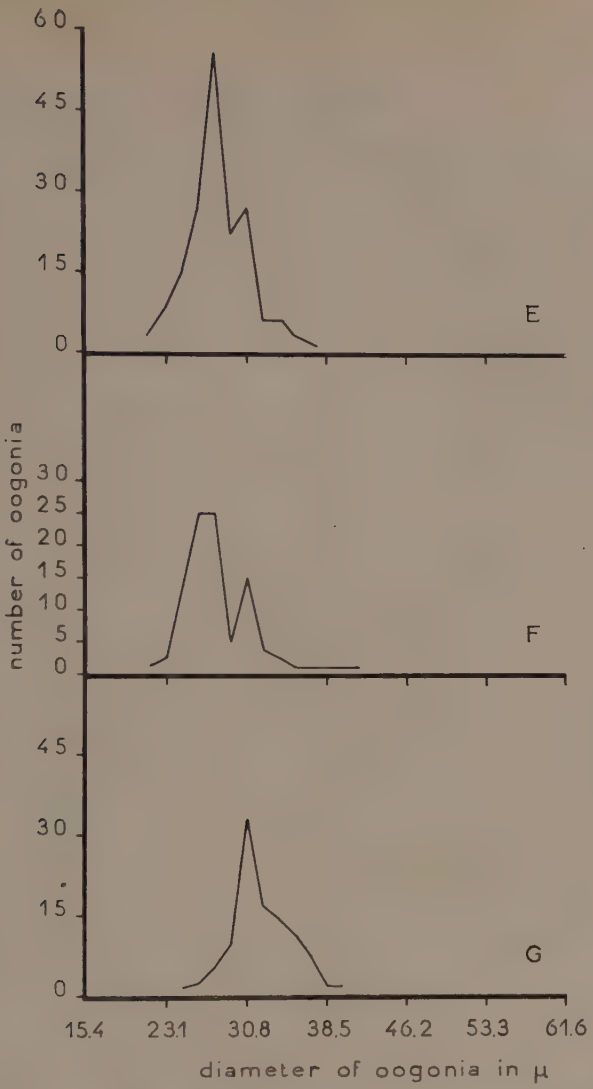


Fig. 2. Size curves of oogonia produced in some matings between tomato, egg-plant, tobacco and sesamum isolates.

A: $Tb_1 \times E_8$, 50 oospores
B: The same mating, 394 oospores
C: $Tb_1 \times T$, 128 oospores
D: $Tb_1 \times S$, 188 oospores
E: E×T, 160 oospores
F: E×S, 105 oospores
G: $T_5 \times E$, 106 oospores

TABLE 3

Matings	in the jar	oospores	in the cell	oospores
1	T8	few	E3a	none
2	E3a	few	T8	few
3	T8	none	E3a	few
4	E3a	few	T8	none
5	T8	none	E3a	few
6	E3a	few	T8	few
7	E3a	none	E3a	none
8	T8	none	T8	none

after incubation of 20 days at 25° C. The results are given on Table 3.

The same strains E3a and T8 were cultured separated in 25 c c of the same liquid medium in 100 c c Erlenmeyer flasks for 15 days at room temperature. After that time the culture media were filtered through a Chamberland bacteriological filter. The filtrates were inoculated with the opposite strain, incubated at room temperature for another 15 days and examined for the presence of oospores. The bottoms of the Erlenmeyer flasks were always covered with glass fragments to secure good aeration. The results can be summarized as follows:

E3a inoculated in the filtrate of T8: few oospores.
T8 inoculated in the filtrate of E3a: none.
E3a inoculated in the filtrate of T8: few oospores.
T8 inoculated in the filtrate of E3a: none.

Control cultures two for each strain were kept under the same conditions, and in the same medium for 30 days. In none of these oospores appeared. These results do not agree with the results obtained by Thomas et al. (31) for *P. palmivora Butler.*

Three monozoospore cultures were prepared from each of the pistachio and Tb1. strains. All of those behaved in crossings as their parent cultures, showing bisexuality.

DISCUSSION

From previous work on the subject, especially that of Leonian (21), as well as from the present study, it can be seen that the sexuality in *P. parasitica Dastur* has much in common with that reported to exist in some other oomycetes, which are considered to be heterothallic and to possess relative sexuality (9, 12, 24, 34). In these latter fungi, besides the strictly heterothallic strains, which appear self-sterile and unisexual, other strains have been reported for which bisexuality can easily be proved, and which often appear self-fertile. The sexuality of *P. parasitica Dastur* seems to be closely similar to that observed in *Sapromyces Reinschii (Schröter) Fritsch* (8). In this as well as in the presently examined strains of Phytophthora, unisexual strains do not seem to exist. These two examples appear to conform to the pattern of Hartmann's theory of relative sexuality (16, 25).

From curves of Fig. 2, it can be seen that in every mating a difference appears to exist in the number of oogonia produced by each strain. Lester Smith (20) observed that such a difference changed with the age of the culture. In this work all the measurements or observations were made on 15 days old cultures on Quaker-oat agar, incubated at 25° C, and the proportion of the oogonia produced by each strain in a given mating, seemed to be constant, as can be seen by comparing the curves A and B of Fig. 2. This proportion seemed also to be almost constant in the matings of strains isolated from the same hosts. The only instance where this appears not to hold true is that of the matings of T5 x egg-plant strains. In these matings the T5 strain appears to produce all the oogonia (cf Fig. 2, curve G), whereas in the crossings with Tb1, behaved as the remainder of the tomato strains. The latter, as well as those from sesamum, in all the matings produced fewer oogonia. Tb1 in the matings with the tomato gave more oogonia, whereas with the egg-plant strains formed less than the latter strains. Can this difference in the proportion of oogonia production, which appears more or less constant, be used as an index of the sexual tendencies between the various strains? If it is considered as such, the strains used in this work can be arranged in the following order according to femaleness: E > Tb1 > S, T. The C, P and Tb2—4 strains produce oogonia of an intermediate size to that of the T, S and E strains, and so the curves of the oogonial size produced in the matings between these two groups of strains failed to show any conspicuous double peak. In relation to Tb1

however they can be arranged in the following order: P>Tb1>Tb2–4.

It is interesting to note that the crossings between strains placed apart in the above arrangement are more frequently fertile than the crossings between strains which are placed close together. It always happens that a strain is more frequently mated succesfully with strains placed apart from it in the sequence than with those nearer it. This can be seen even from Fig. 1, but is more evident if the whole number of the 1320 matings between the 76 isolates, carried out during this work is considered. Thus in the matings of PxS 21 % and in those of PxT 17 % were fertile, whereas in those of PxE only 8 % were fertile. Again in the matings of the Greek isolates from tobacco (Tb2–4) with sesamum and tomato strains, only 3 % were successful, whereas those with egg-plant were 38% successful. Crossings between strains of extreme sexual tendencies, e. g. ExT, ExS were about 88 % fertile. In the crossings of Tb1 with the sesamum and tomato strains 50 % were observed to be fertile, whereas in those between Tb1 and egg-plant strains 62 % were fertile.

These facts indicate that probably in *P. parasitica Dastur* there exists, between the strong female and strong male strains, a whole series of transitional strains with intermediate sexual potentialities.

The stimulation in oospore production observed when the two mated strains were separated by a porous barrier, as well as when culturing one strain in the filtrate of a culture of an opposite sex-strain, may possibly be considered as an indication of the existence of sex hormones in *P. parasitica Dastur,* as has been clearly shown to exist in Achlya (24). However in Achlya, in cultures similar to those, mature oospores were never produced, whereas in this work, the few oospores observed were fully mature and had always amphigynous antheridia. In this respect also *P. parasitica Dastur* behaves as does *Sapromyces Reinschii (Schröter) Fritsch.*

Another interesting fact that appears from this work and has been observed to exist often amongst the heterothallic species of Phytophthora (1,6,14,15,18,23,31) is that the various sex-strains are always isolated from different hosts, while similar sex-strains are reported to be isolated with considerable constancy from the same host. In this work, isolates from the same plant, always showed the same sex-tendencies. This is not true, however, in the case a) of the tobacco isolates, in which differences in sexual tendencies could be observed between the Baarn and the Greek strains and b) of the tomato isolate, T4. This fungus, isolated from tomato fruit, during the first months

after its isolation showed the same sex tendencies with the egg-plant strains. Later on, however, and during the time this work was carried out it appeared to develop the same sex tendencies as the remainder of the tomato isolates. Leonian (21) reports an instance comparable to this, in an isolate of *P. parasitica Dastur.* In all other instances strains isolated from the same host, irrespective of the spot of isolation, always showed the same sex tendencies, and in two cases where tomato and egg-plant plants were grown in the same field, and very close together, the isolates from these two hosts, showed differences in their sex tendencies. Have we to deal with a specialization in the parasitism of the various sex strains of *P. parasitica Dastur?* Kniep (17) having in mind the work of Gadd and Ashby (1, 15), discusses the possibility of the existence of a similar specialization in *P. palmivora Butler.*

SUMMARY

1. 76 isolates of *P. parasitica* from 6 different hosts have been examined as for their oospore production in single strain and mated cultures.

Only 18% have been observed to produce oospores in single strain cultures on Quaker-oat agar during 2 to 6 months.

2. If the strains used were mated on the same medium, oospores appeared abundantly, within 15 days, in certain matings but not in others.

3. All the isolates used have been proved to be bisexual.

4. It is believed that the sexuality in *P. Parasitica Dastur* is relative, being similar to the sexuality existing amongst some other members of the Oomycetes.

5. Sex strains of the same sexual tendency have almost constantly been isolated from the same host plant.

ACKNOWLEDGMENTS

The writer wishes to express his sincere thanks to Prof. J. A. Sarejanni, for suggesting the subject and for his continued advice and encouragement; to Mr. C. Catsimbas and Mr. D. Zachos, for providing some of the Greek isolates included in this work; and to Prof. C. G. C. Chesters, who kindly read the manuscript, made some helpful suggestions and worked hard to put the script into correct English.

LITERATURE CITED

[1] *Ashby, S. F.* 1922. Oospores in cultures of Phytophthora faberi. Kew Bull. Misc. Inform. 257-262.

[2] *Ashby, S. F.* 1928. The oospores of Phytophthora nicotianae Br. de Haan with notes on the taxonomy of P. parasitica Dastur. Tr. Br. Myc. Soc. 18 : 86-95.

[3] *Ashby, S. F.* 1929. Strains and taxonomy of P. palmivora Butl. (P. faberi Maubl.) Tr. Br. Myc. Soc. 14 : 18-38.

[4] *Ashby, S. F.* 1929. Further notes on the production of sexual organs in paired cultures of species and strains of Phytophthora. Tr. Br. Myc. Soc. 14 : 254-260.

[5] *Ashby, S. F.* 1929. The production of sexual organs in pure cultures of P. cinnamomi Rands and Blepharospora cambivora Petri. Tr. Br. Myc. Soc. 14 : 260-63.

[6] *Balakrishnan, M. S.* 1947. Phytophthora palmivora Butler, causing seedling blight of Hibiscus esculentus. Ind. Acad. Sci., 26 : 142-146.

[7] *Barrett, J. T.* 1948. Some conditions contributing in the development and germination of oospores in the genus Phytophthora. Phytopath. 38 (II): 913.

[8] *Bishop, H.* 1940. A study of Sexuality in Sapromyces Reinschii. Mycologia 32 : 505 529.

[9] *Bruyn, de, H. L. G.* 1935. Heterothallism in Peronospora parasitica. Phytopath. 25 : 8

[10] *Catcheside, D. D.* 1951. The Genetics of Microorganisms. London, Pitman and Sons.

[11] *Cohen, M.* 1950. Direct observation of formation of sexual bodies by combination of hyphae of two Phytophthora isolates. Phytopath. 40 : 5.

[12] *Couch, J. N.* 1926. Heterothallism in Dictyuchus, a genus of the water molds. Ann. Bot. 40 : 848-881.

[13] *Dade, H. A* 1928. A comparison of the pathogenicity of various strains of P. faberi Maubl., on cacao pods etc., in the Gold Coast. Gold Coast Dept. Agr., Yearbook 1927 : 89-92 (Paper not seen).

[14] *Gadd, C. H.* 1924. Phytophthora faberi, Maubl. Ann. Roy. Bot. Gardens Paradeniya, 9 : 47-89

[15] *Gadd, C. H.* 1927. The relationship between the Phytophthora associated with the bud-rot disease of palms. Ann. Bot. 41 : 253-289.

[16] *Hartmann, M.* 1931. Relative Sexualität, und ihre Bedeutung für eine allgemeine Sexualität und eine Befruchtungstheorie. Die Naturwissensch. 19, 8-16, 31-37.

[17] *Kniep H.* 1928. Die Sexualität der niederen Pflanzen. Jena, Gustav Fisher.

[18] *Kreutzer W. A, Bodine E. W., and L. W. Durrell,* 1940 : A sexual phenomenon exhibited by certain isolates of P. capsici. Phytopath., 30 : 951-957.

[19] *Labrousse F. et Sarejanni J.* 1930 Recherches physiologiques sur quelques champignons parasites. Phytopath. Zeitschr. 2 (1) : 1-38.

[20] *Lester Smith, W. C.* 1927. Some observations on the oospores of Phytophthora spp. Ann. Roy. Bot. Gardens Paradeniya 10 : 243-57 (RAM, 1928, 8: 60)

[21] *Leonian L.* 1931. Heterothallism in Phytophthora. Phytopath. 21 : 10, 941-955.

[22] *Marudarajan D.* 1941. Observation on the production of sexual organs in pai-

red cultures of Phytophthora species of the palmivora group. Proc. Ind. Acad. Sci. B, 14 (4): 384-389.

[23] *Narasimhan M. J.* 1930. Studies in the genus Phytophthora in Mysore. 1. Heterothallic strains of Phytophthora. Phytopath. 20: 201-14.

[24] *Raper, J. R.* 1939. Sexual hormones in Achlya. I. Indicative evidence for a hormonal coordinating mechanism. Am. J. Bot. 26: 639-650.

[25] *Raper, J. R.* 1940. Sexuality in Achlya ambisexualis. Mycologia, 32, (6): 720-727.

[26] *Sarejanni J.* 1936. La pourriture du collet des solanées cultivées et la classification du genre Phytophthora. Ann. de l'Inst. Phytopath. Benaki, 2 (1): 35-52.

[27] *Sarejanni J.* 1952. Le Phytophthora des aubergines en Grèce. Ann. de l'Inst. Phytopath. Benaki, 6 (1): 14-18.

[28] *Sarejanni J. et Stamatini N.* 1935. Le Phytophthora du tabac en Grèce. Ann. de l'Inst. Phytopath. Benaki, 1: 51-56.

[29] *Schopfer W. H.* 1949. Plants and Vitamins. Chronica Botanica.

[30] *Thomas K. M.* 1940. Detailed Administration Report of the Government Mycologist, Madras, for the year 1939-40. (RAM. 20: 149).

[31] *Thomas K. M., Ramakrishnan T. S., Soumiui C. K. and Balakrishnan M. S.* 1947. Studies in the genus Phytophthora. 1. Oospore formation and taxonomy in Phytophthora palmivora Butler. Proc. Ind. Acad. Sci., B, 26 (4): 147—163.

[32] *Thomas, K. M., Ramakrishnan T. S.* 1948. Studies in the genus Phytophthora 11. Proc. Ind. Acad. Sci., B, 27 (3): 55—73.

[33] *Tucker C. M.* 1931. Taxonomy of the genus Phytophthora de Bary, Miss. Agr. Exp. Sta., Res. Bull. 153.

[34] *Weston W. A. Jr.* 1938. Heterothallism in Sapromyces Reinschii. Mycologia 30 (3): 245—253.

[35] *Wilson, C. W.* 1914. Studies in the American Peronosporales. V. A review of the genus Phytophthora. Mycologia, 6 (2): 54—83.

SOME MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL NOTES ON *Lixus algirus* Lin.

(COLEOPTERA — CURCULIONIDAE)

by

N. TRIANTAPHYLLIDIS*

The Broad bean weevil (*Lixus algirus* Lin.) was identified in Greece early in 1884, by von Oertzen: «Verzeichnis der Coleopteren Griechenlands und Cretas». Until 1943 no serious damages had been whatsoever reported on Broad beans throughout the country and consequently the insect had received minor attention from entomologists.

However, in 1943 (during the German occupation of Greece), the extent of damages inflicted by the Broad bean weevil were very serious, in some instances having entirely destroyed the attacked crop. These damages immediately attracted the attention of the Entomological Laboratory of the Benaki Phytopathological Institute, which requested the writer to carry out an investigation on the conditions of its appearance and generally to study its life cycle.

Morphology of *Lixus algirus* Lin.

Adult: The body of *L. algirus* is long, cylindrical, black in colour, lustrous and bears a dusty cuticular secretion, covering entirely the dorsal surface of the body.

This secretion is of a unified yellow greenish colour, creating the impression that the insect has been thoroughly dusted with sulphur.

The head is projected, forming a long and thin slightly curved cylindrical snout (rostrum). This is slightly flat along the ventral-dorsal axis, and bears lateral antennal grooves directed towards the lower part of the basis of the snout. These grooves serve to receive the scape (scapus) of the antennae which are of the geniculate type.

The labrum is non-existent as is the case with all species of

* Assistant of the Entomological Laboratory - Benaki Phytopathological Institute, 1943 - 1945.

the Curculionidae family. Thus the mouth cavity is covered by the front edge of the clypeus.

The surface of the snout is punctured with small and larger punctures, which render its sides hard. The length of the snout is slightly longer than the prothorax of the male adults of *Lixus algirus* L., while in the case of females the snout is much longer and slightly thinner than that of the males. The bimorphism of the length of the snout constitutes a typical secondary sexual characteristic. The difference in the snout's length between the two sexes is most significant.

On 250 adults examined with respect to the feature in question (120 Male and 130 Female) the following results were noted.

Average Length of Snout	In Millimeters
Male	3.90
Female	4.70

Between the compound eyes, and exactly at the beginning of the snout, there is a small cavity.

The antennae are long and slender articulated to the first half of the snout. The scape (scapus) is considerably longer than the combined lengths of the two first segments of the flagellum. The first segment of the flagellum is longer and slightly thicker than the second whose length is double its width.

The prothorax is wider or equal to its length. Its shape is similar to a cone's frustum, its sides being straight or slightly curved concavely. Its base is divided into two clearly distinct arch-like curves. These curves form an angle which protrudes towards the abdomen, and covers the scutellum in a characteristic way.

At the point where the praescutum and the parapleura are jointed, the prothorax bears a small outgrowth projecting along the body axis, known as the «ocular lobe». This lobe is covered with hair similar in colour to that of the dorsal cuticular secretion.

The pronotum is curved and bears particularly dense punctures on its front part.

The elytra are of the same width with the prothorax. At the point they are articulated with the prothorax they show a marked constriction. The sides of the elytra are parallel and are rounded to the end of the abdomen which is entirely covered by them.

The legs of *Lixus algirus* Lin. are long and slender. The lower surface of the femora of all three pairs of legs is hairy. The femora

of the fore legs are slightly swollen. The tarsi are long. The first tarsal segment of the hind legs is shorter in the female, and of equal length in the males, with the length of the second and third tarsal segments taken together. The ventral surface of the adult is hairy, of a dark yellow colour, which leaves uncovered certain tracheal openings of the abdominal metameres.

The length of the adult, after measuring 250 adults, has been found to be equal to 16—22. 5 millimeters. Generally, the male is shorter than the female.

The Pupa: The body of the pupa of *Lixus algirus* L. resembles that of the adult. (Fig. 1). The head capsule is distinctly seen joined with the prothorax. The snout is clearly distinguished, as well as the antennae, which are shorter than those of the adult.

The scape is jointed with the snout in such a manner that the snout's groove is unseen. The length of *Lixus algirus* snout as a character of sexual bimorphism is an evidence even in the pupal stage of the insect.

The head with the prothorax forms a capsule without any indication for the existence of the cephalothoracic diarthrosis.

On the contrary, both the meso - and the metathorax can distinctly be located. On the sides of the dorsal surface of both the meso— and metathorax there are attached the wing sacs which later will develop in the adult to elytra and membranous wings respectively. The wing sacs are directed towards the ventral surface of the pupa's body covering the femora and tibiae of the hind legs. (Fig. 1).

The legs are distinguished clearly. The formation of joints has not been completed at this stage of the insect's life cycle.

The abdomen is composed of 8 metameres. On the dorsal surface of each metamere from the 3rd through the 8th there is a belt, like a transversal outgrowth bearing small black spines. (Fig. 2).

At the beginning of the pupal stage the colour of the pupa is yellowish white. However, shortly before its metamorphosis into an adult, certain regions of the body change their colour to brown. These regions include the tip of the snout (from the beginning of the antennal groove to the mouth opening), the prothorax, the area adjacent to the femoro-tibial joint, on both the femora and tibiae of all three pairs of legs, and the eyes.

The Larva: The larva of *Lixus algirus* L. is white coloured, cylindrical, slightly swollen at the front third of the body.

The body is composed of 11 metameres of which the first three bear each a pair of legs. (Fig. 3). On the pleurae of the 3rd through the 11th metamere the tracheal openings are distinct. (Fig. 4).

The head is of a dark brown colour, of the orthognathous type. The head is classified as orthognathous, according to H. Weber, when the plane of the mandibular movement is perpendicular to the axis of the body.

On the head, there is a characteristic marking like a reversed Y at each side of which the simple eyes or ommatidia are located.

The clypeus and the labrum can be easily seen with the use of magnifying lens. The length of the larva during the last larval stage (maximum length) is about 2 to 2.5 cm.

Figure 5 shows the consecutive stages of the larval period of *Lixus algirus* Lin. as well as the pupa.

Beside the first larval stage there are shown 4 eggs. The dark colour of the first two eggs, as well as of the 4 larvae is due to the alcoholic solution they were preserved in for a long time.

Egg: The egg of *Lixus algirus* right after it is deposited is light yellow, lustrous, of an elliptical shape.

The colour of the egg is gradually turning darker, until it becomes dark brown shortly before the hatching of the larva. The surface of the egg is covered by punctures easily seen with the microscope.

The length of the egg is 1.4–1.7 mm. an dits width is 1.0–1.1 mm.

Life cycle of *Lixus algirus* Lin.

The life cycle of *Lixus algirus* L. has been closely followed on Broad beans cultivations *(Vicia faba)* of the Amarousion area (suburb of Athens), during the 1943-1944 crop season.

Adults of *Lixus algirus* L. were for the first time observed at the end of February 1944 on Broad beans plants which had already blossomed. On neighbouring plants which did not enter the blossom stage, there were no indications of any attack of the insect.

Attack of *Lixus algirus* Lin. on Broad beans.

The first indications of the insect's presence in the Broad bean crop, were rendered evident by the foliage. Some of the leaves' blades were eaten in a characteristic, typical manner.

The insects devour the foliage only on the outer area. (Fig. 6).

The adults while eating (chewing) stand on the edge of the leaf's blade, holding both sides, and eat the edge by moving their snout from an upper position downwards. A black greenish liquid is secreted, probably for external digestion purposes, which when dried remains either as a spot near the devoured edge, or flows down usually along the central axis of the blade.

The insects eat the leaves always on the edge, and have never shown any indication of eating other areas of the blade.

Soon after the appearance of the insects they started laying their eggs in the stems of the Broad beans. The adults descend to the lower part of the main stem of the plants, after having completed their copulation (More canum). The location of oviposition is always selected in the internod spaces of the stem, where the adult opens a hole with its snout and then insert its egg. These holes are absolutely characteristic of the *Lixus algirus* L. attack, and lend evidence of the adults' presence in Broad beans cultivations.

Laying of Eggs.

The eggs are laid as a general principle on stems of plants which have already blossomed. The females put the tip of the abdomen at the opening which has been made by the snout, and either the egg is inserted by the effort of the female to insert it, or the snout is again used to push the egg into the interior of the hollow stem.

The number of eggs per stem varies from 1 to 3. Usually, it is only one, occasionally 2, and very rarely 3. It was only in one case that seven eggs were laid in one stem.

After observing 100 stems bearing the characteristic holes of the *Lixus algirus* L. oviposition, the following results were obtained.

Number of eggs	At beginning of blossom stage	At full blossom stage
1	20	53
2	9	16
3	—	2

The egg, when laid, is covered by a secretion of the ovaries which causes local necrosis of the tissues of the parenchyma of the central cylinder of *Vicia faba*. The distance of the egg from the hole of its insertion generally depends upon the inclination of the stem

Fig. 1. — Ventral view of *L. algirus* L. pupa.

A: Antenna, B: Snout, C: Tarsi of first pair of legs, D: Tarsi of second pair of legs, E: Wing sacs, Z: Tarsi of third pair of legs, K. T: Abdominal segments, H: Femur of front legs, M: Femorotibial joint.

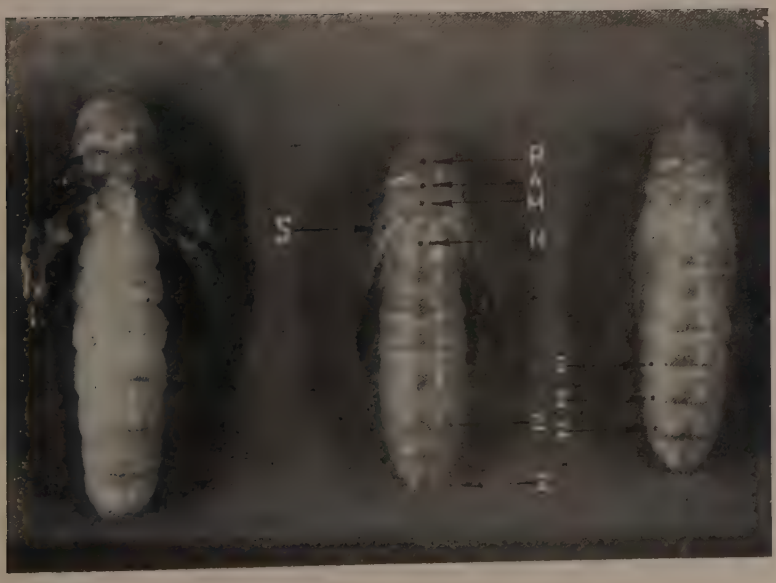


Fig 2. — Dorsal view of *Lixus algirus* L. pupae.

P: Prothorax, A: Joint of Prothorax-Mesothorax, Z: Belts of abdominal metameres bearing black spines, M: Mesothorax, N: Metathorax, S: Wing sacs of Mesothorax (Elytra).

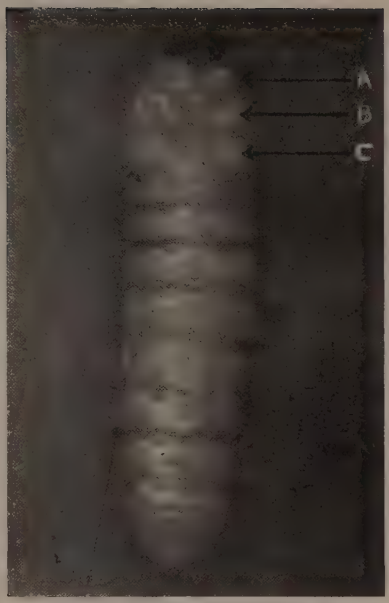


Fig. 3.— Ventral view of *Lixus algirus* L. pupa.

A : First pair of legs, B : Second pair of legs, C Third pair of legs.

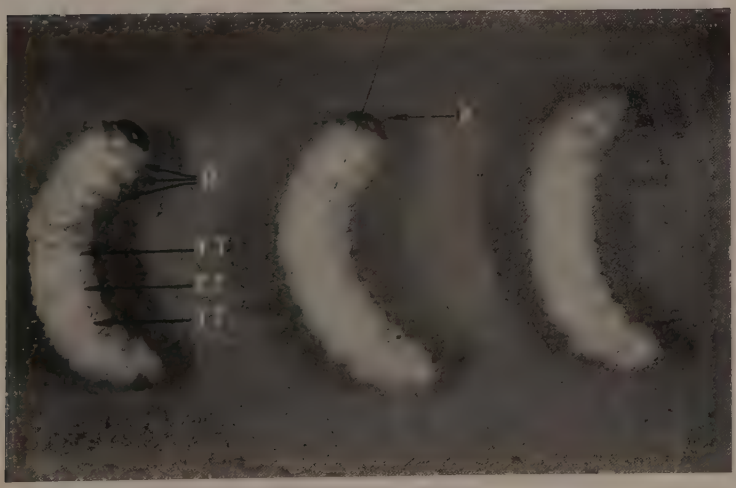


Fig. 4.— Side view of *Lixus algirus* L. larvae.

T.T : Tracheal openings, K : Head, P : Legs.

Fig. 5.— Eggs, Larvae, and Pupae of *Lixus algirus* Lin.

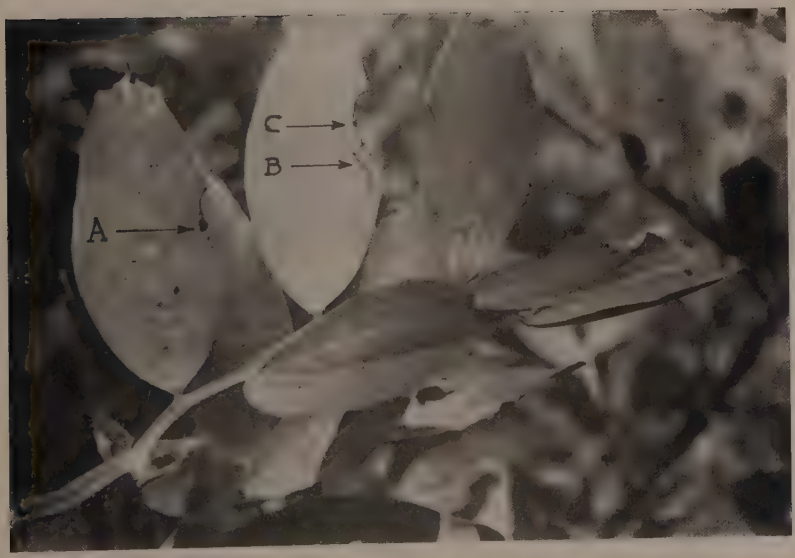


Fig. 6.— Leaves of Broad beans attacked by *Lixus algirus* Lin.
A, B, C : Points of feeding and oral secretion.

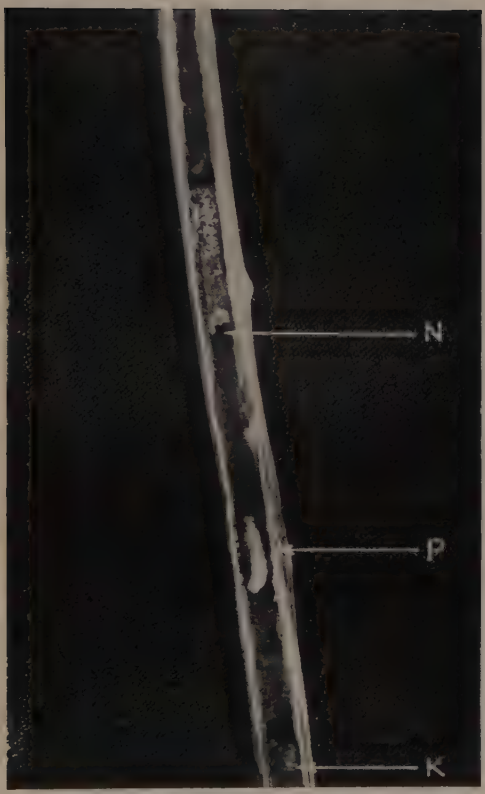


Fig. 7. — Pupation chamber of *Lixus algirus* Lin.

P: Pupa, K Lower end of pupation chamber, N: Cavity where the larva inserts her head during pupation.

axis. The lapse of time since the laying of the egg is evidenced by the stage of its healing. Thus, the tissues adjacent to the hole, originally green, turn to brown as the healing of the wound progresses.

The eggs, as soon as they are oviposited, are light yellow. Gradually, those which are fertile change their colour to brown due to the development of the embryo. The hatching of the eggs takes place usually 10-12 days after the oviposition.

According to F. Silvestri and other entomologists, the females lay their eggs on the central nerves of the leaves' blades of *Vicia faba* too. Such an oviposition has nowhere been observed, not only in the afore-mentioned cultivations of Amarousion, but over many other districts of the Athens area where *Vicia faba* has been cultivated (Kifisia, Chalandri, Frangoklissia, Votanikos, Rouf). On the contrary, wherever there has been an attack of *Lixus algirus* L. on *Vicia faba,* the hole of oviposition on the stem has been an evidence of the insect's presence.

Development of the Larva and Pupa.

After hatching, the larvae start feeding on the parenchyma of the central cylinder near the place of oviposition, but later they climb to the upper part of the stem, where the tissues are softer and continue their detrimental feeding. The crumbs of the tissues upon which the larvae are feeding, fill a great part of the hollow stem.

The total duration of the larval period is about 60—65 days. Having completed her larval stage the larva has a length of 2.5 cm., descends to the lower part of the stem passing through the crumbs which are scattered along the hollow cavity of the stem. Having reached the lower part of the stem, the larva compresses the crumbs creating thus a solid mass of them. On ascending, the larva pushes the remaining crumbs to the upper part of the stem and she forms another solid mass out of crumbs. There is developed in this way a hollow cavity without crumbs, where pupation of the larva takes place. This is what is called the «Pupation chamber», (Fig. 7), the length of which varies from 10—40 cm. In the upper part of the pupation's chamber, the larva forms a small cavity, where she inserts her head. It is only in that position that the larva pupates.

The exuviae of the body and head are always observed in that particular upper part of the pupation's chamber. (Fig. 7). The pupa is very vigorous when reacting to stimuli of prick or pressure.

Shortly before the pupa's metamorphosis into an adult, the white yellowish colour it bears changes on certain areas of the body into brown, as it has already been described.

Metamorphosis of Pupa into Adult.

The pupal stage of *Lixus algirus* L., covers a period of 12—15 days, according to the meteorological conditions which prevail in Greece during May and June.

The adult, after it emerges from the pupal stage is of a white-yellowish colour with the exception of certain areas of the body already mentioned (Tip of snout, Prothorax, Eyes, Femoro-tibial joints).

The elytra and the other parts of the body have not been sclerotized. After its metamorphosis to an adult, the insect remains in the chamber of pupation for a few days during which it undergoes changes in the constituents and the coloration of the cuticula. During this period, as well as during the pupal stage, the insect does not eat. Gradually, by the deposit of waxy and protein material, the elytra as well as the whole body gain hardness. The deposit of chitin under no circumstances encounters sclerotization of the cuticula. The formerly prevailing aspect that chitinization and sclerotization are identical terms, is entirely wrong.

The brown colour which was originally deposited on certain areas is gradually spreading all over the body, until it becomes entirely black, and the cuticula is fully sclerotized.

The dusty cuticular secretion already described in the adults originally observed in February, is missing after the insect is fully sclerotized. Before the insect comes out of the stem of *Vicia faba* it opens a hole of about 0.5 cm. but still remains in the stem for a short time. Observations made upon stems bearing these holes indicated that adults remaining in the pupal chambers of such stems had the yellowish dusty cuticular secretion.

ESSAIS DE CULTURE, *IN VITRO,* DES TISSUS DES GALLES DU *SALVIA POMIFERA L.*

par

STÉPHANE D. DÉMÉTRIADÈS

La culture de tissus végétaux *in vitro* a permis de démontrer que les tumeurs végétales causées soit par l'*Agrobacterium tumefaciens (Smith* et *Towns.) Conn.,* soit par des facteurs génétiques (dans le cas de l'hybride de *Nicotiana glauca* ♂ × *Nicotiana langsdorffii* ♀) présentent des caractères morphologiques et physiologiques nettement distincts de ceux des tissus normaux.

On sait en effet que les tissus tumoraux sont caractérisés par leur prolifération illimitée, *in vitro,* sur un milieu synthétique dépourvu d'auxine (4, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 18).

Un grand nombre d'autres néoplasies des plantes, causées par les champignons, les nématodes, les insectes etc., présentent, *in situ,* un développement strictement limité et une organisation plus ou moins accentuée, surtout dans le cas des galles provoquées par les insectes.

La culture des tissus de ces galles présenterait un intérêt biologique considérable, car elle nous permettrait d'aborder l'étude des propriétés physiologiques de ces formations en dehors des influences régulatrices de l'hôte ou de l'insecte. White (19) a fait des tentatives pour cultiver, *in vitro,* les tissus des galles formées sur des espèces de *Solidago, Quercus* et *Rubus,* sans obtenir de résultats satisfaisants. Envisageant la même question nous avons, récemment, essayé de cultiver, *in vitro,* les tissus des galles causées sur *Salvia pomifera L.* par l'insecte *Aulax sp.* (Hymenoptera, Cynipidae).

Dans cet article nous exposons les résultats de notre tentative sur ce sujet. *

* Nous exprimons nos plus vifs remerciements au Professeur Constantin A. Isaakidès, membre de l'Académie d'Athènes, pour l'extrême obligeance qu'il a eue de nous donner un certain nombre de galles apportées par lui-même de l'île de Crète pour ses recherches personnelles.

TECHNIQUE ET MATÉRIEL

Les galles du *Salvia pomifera* ont une forme plus ou moins sphérique atteignant les dimensions d'une noix. Elles présentent une surface verte, tomenteuse et, à l'intérieur, un tissu parenchymateux traversé par des faisceaux vasculaires et creusé de cavités larvaires.

Pour mettre en culture ce tissu nous avons suivi la technique suivante: les galles furent soigneusement lavées au savon et à l'eau courante, pelées et immergées, pour quelques secondes, dans l'alcool à 95° et ensuite dans une solution d'hypochlorite, à 70 gr. de chlorure de chaux par litre, pendant 20 minutes. Elles furent ensuite rincées, à trois reprises, à l'eau stérile, puis pelées à nouveau sous des conditions aseptiques et enfin découpées en petits cubes de 6mm environ de côté. Pendant cette dernière opération nous avons eu le soin de choisir des fragments sans cavités larvaires. Ceux-ci furent ensemencés sur le milieu minéral de Gautheret (7) auquel furent ajoutés: a) 10 gouttes par litre de la solution de Berthelot légèrement modifiée, b) de l'aneurine à la concentration de 10^{-6}, c) 3 pour 100 de glucose et d) 0,7 pour 100 de gélose. A une partie de ce milieu nous avons ajouté de l'acide α-naphtyle acétique à la concentration de 10^{-7}. Le tout fut stérilisé à l'autoclave à 115° C pendant 20 minutes. La température du laboratoire où ces cultures furent conservées jusqu'à la fin de nos observations, se maintenait aux environs de 30° C.

RÉSULTATS

Ce n'est que vers la moitié du deuxième mois de culture que les explantats, ensemencés sur le milieu pourvu d'auxine, ont commencé à former une masse de tissu plus ou moins translucide. Au bout de trois mois 63 pour 100 de ces explantats avaient proliféré. Par contre, dans le milieu sans auxine les fragments n' ont manifesté aucun développement. (Fig. 1 et 2).

Le tissu néoformé couvrait, très souvent, toute la partie de l'explantat se trouvant hors du milieu. Il s'étalait sur la surface de la gélose sans y pénétrer. Sur la surface de ce tissu, dont le diamètre atteignait 1 ou 1,5 cm, se formèrent de petites racines enchevêtrées.

La partie du fragment plongeant dans la gélose n'avait nullement proliféré.

Le nouveau tissu, translucide et blanc-jaunâtre au début, devint par la suite opaque; sa surface prit une couleur brun-foncé et présenta un aspect subérifié.

Des coupes pratiquées dans ces cultures montrent que l'explantat est constitué par un parenchyme à cellules géantes. (Fig. 3 A).

Fig. 1. Fragments d'une galle de *Salvia pomifera* cultivés pendant 3 mois. A gauche milieu sans auxine : l'explantat n'a manifesté aucun développement. A droite : milieu contenant 10^{-7} d'acide naphtyle acétique : la partie se trouvant à l'air libre a proliféré.

A la périphérie de la partie du fragment se trouvant hors de la gélose se manifeste une multiplication cellulaire qui donne naissance au tissu néoformé. Celui-ci présente un parenchyme homogène dont les cellules ont des dimensions variant de 20 à 50 μ en moyenne. (Fig. 3 A). Au sein de ce parenchyme se différencient des cellules réticulées, presque isodiamétriques et disposées sans ordre. Les couches superficielles de la culture se subérisent très vite.

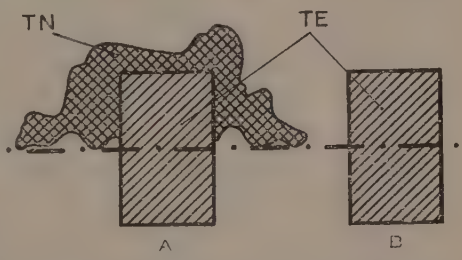


Fig. 2. Dessin schématique d'une coupe longitudinale de deux explantats (TE) au bout de 3 mois de culture. **A** : Formation de tissus nouveaux (TN) par le fragment se développant en présence de substance de croissance. Seule la partie se trouvant à l'air libre a proliféré. **B** : Le fragment sur le milieu sans auxine n'a manifesté aucun développement. La ligne horizontale correspond à la surface de la gélose.

Nous avons essayé de repiquer le tissu formé sur un milieu identique à celui utilisé pour le prélèvement primaire contenant de l'acide α-naphtyle acétique à la dose de 10^{-7}. Ces cultures repiquées ne se développèrent guère au bout de deux mois. Le tissu se subérisait intensement et ne proliférait point.

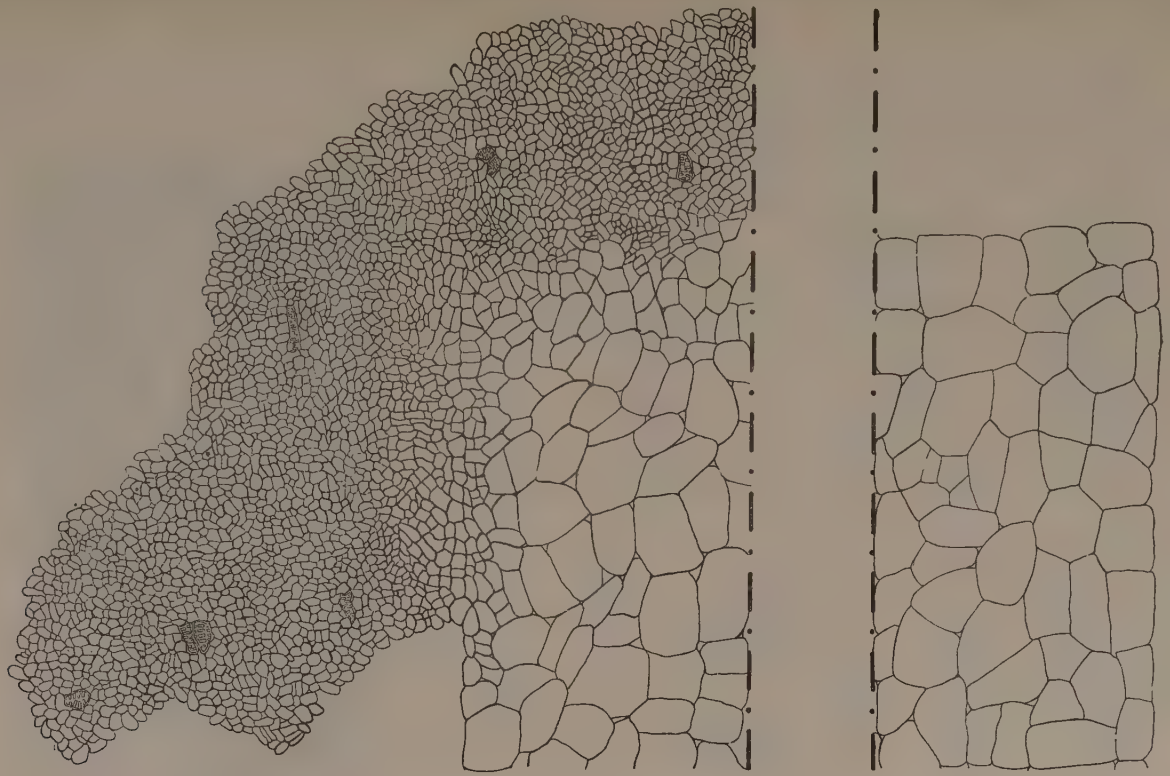


Fig. 3. Dessin d'une coupe longitudinale pratiquée dans des fragments d'une galle de *Salvia pomifera* cultivés *in vitro* pendant 3 mois. Le dessin ne comprend que la moitié de la partie de l'explantat se trouvant hors du milieu. **A**: Explantat se développant sur un milieu additionné d'acide naphtyle acétique à 10^{-7}. Les cellules géantes du fragment se sont divisées en donnant un parenchyme homogène à petites cellules, au sein duquel se différencient des cellules réticulées disposées sans ordre. **B**: Explantat cultivé sur le même milieu dépourvu d'auxine; le tissu n'a présenté aucune modification.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les résultats de nos expériences montrent que les tissus des galles causées sur *Salvia pomifera L.* par *Aulax sp.* peuvent proliférer, au prélèvement primaire, mais seulement en présence d'auxine. Le déclenchement de la multiplication des cellules géantes de l'explantat se fait cependant au bout d'un temps excessivement long par rapport à celui demandé par d'autres tissus.

Le besoin d'auxine montre que les cellules de ce tissu possèdent des propriétés différentes de celles des cellules des tumeurs de crown-gall ou de l'hybride précité de *Nicotiana.* Ce fait est sans doute en rapport avec le mécanisme intime qui aboutit à la transformation du tissu normal dans les deux cas.

Le déterminisme de la formation des galles est encore assez obscur. Malpighi, le premier, a émis l'hypothèse que la larve de l'insecte sécrète une substance provoquant le développement des tissus de l'hôte (5). Cette conception est actuellement acceptée, d'une manière générale, bien que lès facteurs qui incitent la transformation du tissu normal en galle ne soient qu'imparfaitement connus. Beijerinck (17) invoquait l'action de ce qu'il appelait une «enzyme de croissance». Les expériences de Beck (2) suggèrent que les enzymes protéolytiques ainsi qu'un pH élevé, jouent un rôle important dans le mécanisme de la formation des galles de *Solidago* causées par *Eurosta solidaginis.*

D'un autre côté, l'action de substances excito-formatrices, analogues aux auxines, est, dans certains cas du moins, fort probable. Les résultats de LaRue (13), de Link [cité par Allen (1)], de Nystérakis (15, 16), et de Boysen-Jensen (3) montrent que les insectes peuvent sécréter des substances agissant comme les auxines. Jacquiot (12) a, d'autre part, trouvé que la vermoulure des larves d'*Agriotus bigut-tatus,* qui provoquent la formation de tumeurs ligneuses au niveau du cambium des arbres attaqués, contient une substance excitoformatrice qui, bien qu'elle donne au test-avoine des résultats négatifs, incite la prolifération des tubercules de topinambour cultivés *in vitro.* Cette substance appartiendrait, selon cet auteur, au groupe des acides à noyau phénolique.

Quoi qu'il en soit, l'action de la substance excito-formatrice sur les cellules de l'hôte dans le cas des galles ne paraît pas produire une transformation physiologique permanente comparable à celle subie par les cellules des tumeurs de crown-gall. Dans ce dernier cas l'hormone joue un rôle important lorsqu'elle est associée au facteur can-

cérigène proprement dit, qui reste, jusqu' à présent, inconnu (4). L'auxine seule produit bien des néoplasies, mais jamais une vraie tumeur (6).

Le fait du besoin d'auxine pour la prolifération des tissus des galles du *Salvia pomifera,* montre que ceux-ci ne sont, en somme, à ce point de vue, que des tissus normaux différant nettement des tumeurs vraies.

RÉSUMÉ

Des essais entrepris dans le but de cultiver, *in vitro,* les tissus des galles du *Salvia pomifera L.* causées par l'insecte *Aulax sp.* ont montré qu'au prélèvement primaire les explantats peuvent proliférer, mais seulement en présence d'auxine. Les tissus repiqués n'ont pas pu se développer sur le même milieu. Il s'ensuit que le tissu des galles, exigeant pour sa prolifération la présence d'auxine, se montre du point de vue physiologique bien différent des vraies tumeurs.

BIBLIOGRAPHIE

1 *Allen T. C.*, 1951. Deformities caused by insects. Plant growth substances, Univ. of Wisconsin p. 411.

2 *Beck E. G.*, 1946. A study of the Solidago gall caused by Eurosta solidaginis. Amer. Journ. Bot. 33 : 228 (Abstr.).

3 *Boysen - Jensen P.*, 1948. Formation of galls by Mikiola fagi. Physiologia Plantarum 1 95—108.

4 *Brawn A. C.*, 1947. Recent advances in the physiology of tumor formation in the crown - gall disease of plants. Growth Symposium, 11(4) : 325—337.

5 *Carter W.*, 1952. Injuries to plants caused by insect toxins. Bot. Rev. 18: 680—721, ibid. 1939, 5 : 273—366.

6 *De Ropp R. S.*, 1947. The response of normal plant tissue and of crown - gall tissues to synthetic growth hormones. Amer. Journ. Bot. 34 : 53—62.

7 *Gautheret R. J.*, 1942. Manuel technique de culture de tissus végétaux.

8 *Gautheret R. J.*, 1947. Action de l'acide indole - acétique sur le développement des tissus normaux et des tissus de crown - gall de topinambour cultivés in vitro. C. r. Ac. Sci. (Paris) 224 : 1728—1730.

9 *Gautheret R. J.*, 1947. Sur les besoins en hétéroauxine des cultures de tissus de quelques végétaux. C. r. Soc. Biol. (Paris) 141 : 627—629.

10 *Gautheret R. J.*, 1948. Action de l'acide indole - acétique sur le développement de trois types de tissus de scorsonère, tissus normaux, tissus de crown-gall et tissus accoutumés à l'hétéroauxine. C. r. Soc. Biol. (Paris) 142 : 774—775.

11 *Hildebrandt A. C.*, and *Riker A. J.*, 1947. Influence of some growth regulating substances on sunflower and tobacco tissue in vitro. Amer. Journ. Bot. 34 : 421—427.

[12] *Jacquiot C.*, 1950. Sur le déterminisme de la formation des tumeurs ligneuses observées chez les chênes attaqués par Agriotus biguttatus Fab. (Coleopt. Buprestidae). C. r. Ac. Sc. (Paris) 231 : 1552—1554.

[13] *LaRue C. D.*, 1935. The role of auxin in the development of intumescences on poplar leaves ; in the production of cell outgrowths in the tunnels of leaf - miners ; and in the leaf - fall in Coleus. Amer. Journ. Bot. 22 : 908 (Abst.).

[14] *Morel G.*, 1948. Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. Ann. des Epiph. vol. 14 (N. 5).

[15] *Nystérakis F.*, 1948. Nouvelles observations sur l'inhibition de la croissance des organes du Prunier attaqués par Anuraphis helichrysi. C. r. Ac. Sc. (Paris) 226 : 831-832.

[16] *Nystérakis F.*, 1948. Autres preuves sur la sécrétion d'auxines par certains insectes. Un nouveau test, très sensible pour le dosage des substances de croissance. C. r. Ac. Sc. (Paris) 226 : 1917-1919.

[17] *Went E. W. and Thimann K. V.* 1937. Phytohormones.

[18] *White P. R.*, 1939. Potentially unlimited growth of excised plant callus in artificial nutrient. Amer. Journ. Bot. 26 : 59-64.

[19] *White P. R.*, 1951. Neoplastic growth in plants. The Quarterly Review of Biology, 26 : 1-16.